

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktoren: Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. G. Lasch

**Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage
der Beeinflußbarkeit der Hyaluronidase-,
 β -Glucuronidase- und β -Acetylglucosaminidase-
Aktivität durch ACTH und PREDNISOLON**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
an der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Vorgelegt von
Karl Heinrich Bolle
aus Oberaula

Gießen 1970

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktoren: Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. G. Lasch

**Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage
der Beeinflußbarkeit der Hyaluronidase-,
 β -Glucuronidase- und β -Acetylglucosaminidase-
Aktivität durch ACTH und PREDNISOLON**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
an der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Vorgelegt von
Karl Heinrich Bolle
aus Oberaula

Gießen 1970

Aus dem Medizinischen Kabinett und Pathologisches
Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen
Doktorant: Prof. Dr. H. G. Lasch, Prof. Dr. H. G. Lasch

Terapeutische Erfahrungen zur Frage
der Behandlung der Hysterie
- Chloralhydrat- und B-Acetylcholinesterase-
Aktivität durch ACTH und PREDNISOLON

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
an der Justus-Liebig-Universität Gießen
der Medizinischen Fakultät



Dekan: Prof. Dr. H. G. Lasch
Referent: Priv. Doz. Dr. D. Platt
Korreferent: Prof. Dr. G. Gundlach

GLIEDERUNG

	Seite
1.0.0.0 Einleitung	7
2.0.0.0 Untersuchungsmaterial	
1.0.0 Gruppeneinteilung und Dosierung	9
1.1.0 Gabe von Prednisolon-21-hemisuccinat-Natrium	
1.2.0 Gabe von ACTH	
2.0.0 Aufarbeitung der Leber	10
2.1.0 Vorbereitung für die DNS-Bestimmung	
2.2.0 Homogenatherstellung	
3.0.0 Urine	11
3.0.0.0 Methodik	
1.0.0 Proteinbestimmung	12
1.1.0 Biuret-Methode	
1.2.0 Lowry-Methode	
2.0.0 Bestimmung des DNS-Gehaltes	13
3.0.0 Bestimmung der Enzyme in der Lysosomenfraktion	
3.1.0 Hyaluronidase	
3.2.0 β -Glucuronidase	14
3.3.0 β -Acetylglucosaminidase	
4.0.0 Bestimmungen im Urin	
4.1.0 Hexosamin	15
4.2.0 Gesamtglucuronsäure	16
4.0.0.0 Tabellarische Darstellung des gewonnenen Zahlenmaterials. Erklärung der verwendeten Abkürzungen	18
1.0.0 Enzymaktivitäten im 1. Bezugssystem (Protein)	
1.1.0 Hyaluronidase	
1.2.0 β -Glucuronidase	19
1.3.0 β -Acetylglucosaminidase	
2.0.0 Enzymaktivitäten im 2. Bezugssystem (DNS)	
2.1.0 Hyaluronidase	20
2.2.0 β -Glucuronidase	
2.3.0 β -Acetylglucosaminidase	21
3.0.0 Korrelationsstatistische Einteilung	22
3.1.0 Vergleich der Aktivitäten in den 2 Bezugssystemen	
3.1.1 Hyaluronidase	
3.1.2 β -Glucuronidase	

	Seite
3.1.3 β -Acetylglucosaminidase	23
3.2.0 Vergleich der einzelnen Enzymaktivitäten	
3.2.1 β -Glucuronidase / β -Acetylglucosaminidase	
3.2.2 β -Acetylglucosaminidase / Hyaluronidase	24
3.2.3 β -Glucuronidase / Hyaluronidase	
4.0.0 Proteingehalt	
4.1.0 Proteingehalt des Lysosomenfraktionsüberstands	
4.2.0 Proteingehalt der Lysosomenfraktion vor der Dialyse	25
4.3.0 Proteingehalt in der Lysosomenfraktion nach der Dialyse	
5.0.0 DNS-Gehalt	
6.0.0 Bestimmungen im Urin	26
6.1.0 Hexosamin	
6.2.0 Gesamtglucuronsäure	
7.0.0 Quotient aus Leber- und Lebendgewicht	27
8.0.0 Quotient aus End- und Anfangsgewicht	28
5.0.0.0 Statistik	
1.0.0 Stichprobe -Grundgesamtheit	
2.0.0 Mittelwert - Standardabweichung - Varianz	
3.0.0 t-Test zur Prüfung des Unterschiedes von Mittelwerten kleiner, unabhängiger Stichproben	30
4.0.0 Korrelationskoeffizient r und Regressionsgerade	31
4.1.0 Korrelationskoeffizient r	
4.2.0 Regressionsgerade	
5.0.0 Der Vergleich zweier unabhängiger Stichproben nach dem U-Test von WILCOXON, MANN und WHITNEY	32
6.0.0 Signifikanzschranken	
6.0.0.0 Ergebnisse	34
1.0.0 Enzymaktivitäten (Bezugsgröße : Protein)	
1.1.0 Hyaluronidase	35
1.2.0 β -Glucuronidase	
1.3.0 β -Acetylglucosaminidase	
2.0.0 Enzymaktivitäten (Bezugsgröße : DNS)	36
2.1.0 Hyaluronidase	
2.2.0 β -Glucuronidase	
2.3.0 β -Acetylglucosaminidase	37

	Seite
3.0.0 Vergleich der Aktivitäten in den 2 Bezugssystemen	
3.1.0 Hyaluronidase	38
3.2.0 β -Glucuronidase	
3.3.0 β -Acetylglucosaminidase	
4.0.0 Vergleich der Enzymaktivitäten	
4.1.0 β -Acetylglucosaminidase / β -Glucuronidase	39
4.2.0 β -Acetylglucosaminidase / Hyaluronidase	
4.3.0 β -Glucuronidase / Hyaluronidase	
5.0.0 Proteingehalt	40
5.1.0 Proteingehalt des Lysosomenfraktionsüberstands	
5.2.0 Proteingehalt in der Lysosomenfraktion vor der Dialyse	
5.3.0 Proteingehalt in der Lysosomenfraktion nach der Dialyse	41
5.4.0 Verhalten des Proteingehaltes vor und nach der Dialyse	
6.0.0 Bestimmungen im Urin	42
6.1.0 Hexosamin	
6.2.0 Gesamtglucuronsäure	
7.0.0 DNS	43
8.0.0 Quotient aus Leber- und Lebendgewicht	
9.0.0 Quotient aus End- und Anfangsgewicht	44
7.0.0.0 Abbildungen	45
8.0.0.0 Diskussion	58
9.0.0.0 Zusammenfassung	60
10.0.0.0 Literaturverzeichnis	61

1.0.0.0 EINLEITUNG

Glucocorticosteroide üben auf eine Reihe von Geweben unterschiedliche Wirkungen aus - teils im physiologischen Rahmen, teils nach der Applikation von pharmakologischen Dosen. Kurz erwähnt sei an dieser Stelle nur die Beeinflussung der Gluconeogenese, die antiphlogistische Wirkung, die Immunsuppression und die Beeinflussung des hämatopoetischen Systems. (1 - 10)

So wird unter anderem auch das Bindegewebe durch Hormone beeinflusst. (11 - 32) Über den dabei zu Grunde liegenden Mechanismus ist bis heute noch wenig Sicheres bekannt. (43, 54)

In tierexperimentellen Untersuchungen fand die Gruppe um HAUSS und JUNGE-HÜLSING nach Gabe von Glucocorticosteroiden (53, 54, 57) eine ausgeprägte Wirkung auf den Mucopolysaccharidstoffwechsel des Bindegewebes. (33 - 52) Als Parameter wählte sie den $^{35}\text{SO}_4$ -Einbau in die sauren Mucopolysaccharide (sMPS). Aus den Ergebnissen geht hervor, daß nach der Applikation von ACTH und Cortison eine deutliche Abnahme des Sulfateinbaus erfolgt, als Zeichen für eine verminderte MPS-Synthese. Außerdem war die biologische Halbwertszeit der verschiedenen sMPS verlängert; diese Befunde ließen daran denken, daß der Abbau der sauren Mucopolysaccharide herabgesetzt sein könnte.

Aktivitätsmessungen der am Abbau beteiligten Enzyme unter dem Einfluß von Hormonen liegen bisher nicht vor.

Untersuchungen auf isolierte Lysosomen haben gezeigt, daß es in physiologischen Konzentrationen zu einer Stabilisierung der Membran kommt. (55, 56)

Die im Vergleich zum Glucocorticosteroideffekt identische Wirkung nach Gabe von ACTH ist zum Teil über die Freisetzung von NNR-Hormonen, zum anderen durch eine direkte Wirkung zu erklären. (54, 57)

In der vorliegenden Arbeit sollte nun der Frage nachgegangen werden, inwieweit durch Gabe von Prednisolon und ACTH

1. die Aktivitäten der am Abbau der Mucopolysaccharide beteiligten lysosomalen Enzyme-(58, 59, 60) Hyaluronidase (E.C. 3.2.1.35), β -Glucuronidase (E.C. 3.2.1.31) und β -Acetylglucosaminidase (E.C. 3.2.1.30) der Rattenleber beeinflußt werden und
2. eine Urinkonzentrationsänderung der Mucopolysaccharidspaltprodukte: Hexosamin und Glucuronsäure nachweisbar ist.

2.0.0.0 UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Die Untersuchungen wurden an weiblichen und männlichen Albino-Ratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 160 - 190 g durchgeführt. Während des Versuches wurden die Tiere unter konstanten Milieu- und Fütterungsbedingungen gehalten.

2.1.0.0 GRUPPENEINTEILUNG UND DOSIERUNG

2.1.1.0 Gabe von Prednisolon-21-hemisuccinat-Natrium

Es wurden 2 Versuchsgruppen gebildet. Die erste bestand aus weiblichen, die zweite aus männlichen Ratten. Die Tiere erhielten das Präparat Solu-Decortin H^R (Fa. E. Merck AG, Darmstadt, Westdeutschland) in einer Dosis von 25 mg/kg/Tag über 6 Tage morgens i. p. injiziert. Die Kontrolltiere erhielten die entsprechende Menge an Lösungsmittel (aqua pro injectione). Die Tiere wurden am 7. Tag durch Nackenschlag und Entbluten getötet, die Leber sofort entnommen und für die biochemischen Untersuchungen nach 2.2.2.0 präpariert. Zur Bestimmung des Hexosamin- und Gesamtglucuronsäure-Gehaltes im Urin wurden die Tiere während des Versuches in Stoffwechselkäfigen gehalten.

2.1.2.0 Gabe von adrenokortikotropem Hormon (ACTH)

Es wurden 2 Versuchsgruppen gebildet. Die erste setzte sich aus weiblichen, die zweite aus männlichen Ratten zusammen. Die Versuchstiere erhielten während einer 30tägigen Versuchsdauer jeden zweiten Tag das Präparat Acethropan^R (Farbwerke Hoechst AG vorm. Meister Lucius & Brüning, Frankfurt/M., Westdeutschland) s. c. injiziert. Es wurde wie folgt dosiert:

200 - 250 g Körpergewicht 0.8 I. E.

250 - 300 g Körpergewicht 1.0 I. E

300 - 350 g Körpergewicht 1.2 I. E

350 - 400 g Körpergewicht 1.4 I. E

Die Kontrolltiere erhielten die entsprechende Menge des Lösungsmittels (aqua pro injectione) injiziert.

Vom 1. - 3. Versuchstag, vom 14. - 16. Tag und vom 28. - 30. Tag wurden die Tiere in Stoffwechselkäfigen gehalten, um Hexosamin- und Gesamtglucuronsäurebestimmungen im Urin durchführen zu können.

Die Ratten wurden am 30. Tag durch Dekapitieren und Entbluten getötet und die Leber wie unter 2.2.2.0 präpariert.

2.2.0.0 AUFARBEITUNG DER LEBER

Unmittelbar nach Dekapitieren des Tieres wurde die Leber entnommen und im Kühlraum bei 4°C nach der folgenden Methode aufgearbeitet:

2.2.1.0 Vorbereitung für die DNS-Bestimmung

Nach Feststellen des Organgewichtes wurden 2 g entnommen und bei 60°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Dieses Material wurde später mit dem Ultraturrax (Fa. Jahnke & Kunkel) feinkörnig zermahlen. Hiervon wurden 50 mg für die DNS-Bestimmung verwandt (siehe 3.2.0.0).

2.2.2.0 Homogenatherstellung

Die restliche Organmenge wurde mit der dreifachen Menge eines 0.25 mol Saccharosepuffers (pH : 7.2) mit einem Potter Elvelijem homogenisiert. Anschließend wurde das Homogenat für 15 Minuten bei 3000 - 4000 U/min zentrifugiert. Der Rückstand wurde verworfen und der Überstand erneut bei 18000 U/min für 20 Minuten zentrifugiert.

Im Überstand wurden Protein- und Enzymaktivitätsmessungen (freie lyso-somale Aktivität) durchgeführt.

Der Rückstand wurde mit 10 ml Citrat-Phosphat-Puffer (0.1 mol pH : 4.1 0.15 mol NaCl 0.1 % Triton X 100) versetzt.

Nach 3 Einfrier/Auftauschritten wurden in diesen Präparationen ebenfalls Protein- und Enzymaktivitätsmessungen durchgeführt.

2.3.0.0 URINE

Es wurden jeweils Tagesurine (24 Stunden) gesammelt (Zeit nach dem Spritzen bis kurz vor dem Spritzen am nächsten Tag). Die Proben wurden bei -25°C eingefroren und in der Tiefgefriertruhe bis zur Bestimmung aufbewahrt.

3.0.0.0 METHODIK

3.1.0.0 PROTEINBESTIMMUNG

3.1.1.0 Biuret-Methode

Die Proteinbestimmung in der Lysosomenfraktion sowie im Lysosomenfraktionsüberstand wurde mit der Biuret-Methode nach WEICHSELBAUM (61) durchgeführt.

Ausführung: 0.2 ml Proteinlösung, 1.8 ml physiologische Kochsalzlösung und 2.0 ml Biuret - Reagenz (45 g Kaliumnatriumtartrat, 15 g Cu (II) Sulfat, 5 g Kaliumjodid in 1 Liter carbonatfreier 0.2 n Natronlauge) wurden nach 20minütigem Stehen bei Zimmertemperatur 5 Minuten lang bei 3000 U/min zentrifugiert. Anschließend erfolgte die Messung des Farbkomplexes bei 546 nm im Photometer "Eppendorf".

Gleichzeitig liefen ein Substratblindwert (2.0 ml Biuret 2.0 ml physiologische Kochsalzlösung) und für jede Probe ein Enzymblindwert (0.2 ml der zu untersuchenden Probe 3.8 ml physiologische Kochsalzlösung) mit. Die Eichkurve wurde an Hand einer Verdünnungsreihe mit dem Kontroll-Serum "Lab-Trol" (DADE Reagents Inc., Miami, USA) aufgestellt.

3.1.2.0 Lowry-Methode

Bei erwarteten Proteinkonzentrationen unter 1.5 mg/ml wurde die Methode nach LOWRY (62), modifiziert nach RIEDER (63) angewandt.

Ausführung: 0.1 ml der zu untersuchenden Probe wurden mit 5 ml Reagenz (1 ml 0.5 % $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ in 1 % Na-Citrat 49 ml 2 % Na_2CO_3 in 0.1 n NaOH) versetzt und für 10 min bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Danach erfolgte die Zugabe von 1 ml Phenolreagenz (Phenolreagenz nach Folin-Ciocalteu; Merck Nr. 9001). Nach 45minütigem Stehen bei 37° C und anschließendem gleichmäßigen Abkühlen auf Zimmertemperatur wurde der Farbkomplex bei 755 nm im "Eppendorf-Photometer" gemessen. Die Bestimmung erfolgte gegen einen Blindwert, der statt der Eiweißlösung

0.1 ml physiologische Kochsalzlösung enthielt.

Die Eichkurve wurde an Hand einer Verdünnungsreihe mit Lab-Trol (DADE Reagents Inc., Miami, USA) durchgeführt.

3.2.0.0 BESTIMMUNG DES DNS-GEHALTES

Die quantitative Bestimmung der Desoxyribonucleinsäure (DNS) erfolgte in dem vorbereiteten Trockengewebe (siehe dazu 2.2.1.0) mit der Indol-Methode nach CERIOTTI (64) und KECK (65).

Ausführung: 50 mg Trockengewebe wurden mit 4 ml Perchlorsäure (0.5 molar) versetzt und für 30 Minuten bei 90° C hydrolysiert. Nach 3minütigem Zentrifugieren bei 3000 U/min wurden 3 ml dieses Hydrolsates abgehebert und mit 2 ml Perchlorsäure (0.5 molar) versetzt. Davon wurden für den Hauptwert 2 ml abpipettiert und mit 1 ml Indol (0.06 %) und 1 ml 3n HCl versetzt. Für den Blindwert wurden 2 ml Hydrolsate mit 2 ml 0.5 mol Perchlorsäure zusammengegeben. Nach 10minütigem Hydrolysieren bei 90° C und anschließendem Abkühlen auf Zimmertemperatur wurde zweimal mit dem gleichen Volumen Essigsäure-iso-amylester kräftig ausgeschüttelt. Nach erfolgter Trennung der beiden Phasen wurde der überstehende Essigsäure-iso-amylester abpipettiert und verworfen. Nach kurzem Zentrifugieren wurde der entstandene Farbkomplex im "Beckmann-Photometer" bei 490 nm bestimmt. Außer dem angegebenen Leerwert lief bei jeder Reihe ein Substratblindwert mit (2ml Perchlorsäure, 1 ml Indol-lösung und 1 ml Salzsäure).

Die Eichwerte wurden durch Versuchsansätze mit DNS aus Heringssperma (niedermolekular, pract., entfettet, Serva Entwicklungslabor, Heidelberg) gewonnen.

3.3.0.0 BESTIMMUNG DER ENZYME IN DER LYSOSOMENFRAKTION

3.3.1.0 Bestimmung der Hyaluronidase

Die Bestimmung der Hyaluronidase-Aktivität in der Lysosomenfraktion erfolgte nach der modifizierten MORGAN-ELSON-Reaktion (66, 67).

Als Substrat diente Kaliumhyaluronat aus Hahnenkämmen (68a, 68b).

Der Nachweis dieses Enzyms konnte erst nach einer Vorbehandlung der Lysosomenfraktion erfolgen (siehe 4.1.1.0).

Ausführung: 0.3 ml der zu untersuchenden Probe 0.15 ml einer 0.025 mol Hyaluronat-Lösung wurden jeweils mit einem Tropfen Toluol versetzt und bei 37° C im Wasserbad für 16 Stunden inkubiert. Als Enzymblindwert lief ein Ansatz mit, der an Stelle des Substrates 0.15 ml aqua dest. enthielt. Nach Zugabe von 0.1 ml K⁻-Tetraboratlösung (0.8 mol, pH:9.1) und 3minütigem Erhitzen bei 100° C erfolgte Abkühlen auf Zimmertemperatur. Nach Zugabe von 3 ml Ehrlichs' Reagenz (1:10 mit Eisessig verdünnt) und 20minütigem Inkubieren bei 37° C im Wasserbad wurde der Ansatz 5 Minuten lang bei 3000 U/min zentrifugiert. Das Sediment wurde verworfen.

Die Extinktion des Farbkomplexes wurde im "Eppendorf-Photometer" bei 546 nm bestimmt. Als Substratblindwert diente der folgende Ansatz:
0.15 ml Substrat 0.30 ml aqua dest.

Die Eichkurve wurde mit einer Konzentrationsreihe von N-Acetyl-Glucosamin aufgestellt.

3.3.2.0 β-Glucuronidase

Die Bestimmung der β-Glucuronidase in der Lysosomenfraktion erfolgte im wesentlichen nach der Methode von FISHMAN (69), in der Modifikation nach DOHRMANN (70).

Ausführung: 0.1 ml der zu untersuchenden Probe, 0.8 ml Azetatpuffer (0.1 molar, pH: 5.2) und 0.1 ml einer 0.01 mol Phenolphthalein-mono-β-Glucuronid-Lösung (Sigma Chemicals, St. Louis, USA) (71) wurden bei 37° C im Wasserbad für 1 Stunde inkubiert. Danach erfolgte Zugabe von 2.5 ml einer alkalischen Glycinlösung (0.5 mol, pH:10.45). Nach 3minütigem Zentrifugieren bei 3000 U/min - das Sediment wurde verworfen - erfolgte die Extinktionsmessung des Farbkomplexes bei 546 nm im "Eppendorf-Photometer".

Der Enzymblindwert enthielt: 0.1 ml der Lysosomenfraktion 0.9 ml
Azetatpuffer. Der Substratblindwert enthielt: 0.1 ml Substrat 0.9 ml
aqua dest.

Die Eichkurve wurde mit einer Konzentrationsreihe von Phenolphthalein aufgestellt.

3.3.3.0 Bestimmung der β -Acetylglucosaminidase

Die Bestimmung der β -Acetylglucosaminidase-Aktivität in der Lysosomenfraktion erfolgte nach der Methode von FINDLAY und PUGH (72, 73).

Ausführung: 0.1 ml der zu untersuchenden Probe, 0.5 ml Citrat-Phosphat-Puffer (0.1 molar, pH : 4.4) und 0.4 ml 0.025 mol β -Phenyl-N-Acetyl-D-Glucosaminid-Lösung (74) wurden für 1 Stunde bei 37° C im Wasserbad inkubiert. Nach der Zugabe von 2 ml Folin-Reagenz (Folin-Ciocalteu, Fa. E. Merck, Darmstadt) (1:3 mit aqua dest. verdünnt) wurde das ausgefällte Protein 5 Minuten lang bei 3000 U/min abzentrifugiert.

Vom Überstand wurden 2 ml abpipettiert und mit 3 ml Natriumcarbonat (12 % Na_2CO_3) versetzt. Nach 20minütigem Inkubieren bei 37° C im Wasserbad erfolgte die Extinktionsmessung des Farbkomplexes bei 650 nm im "Beckmann-Photometer".

Dabei enthielten der Enzymblindwert : 0.1 ml Lysosomenfraktion 0.9 ml
Citrat-Phosphat-Puffer und der Substratblindwert: 0.1 ml Substrat 0.9 ml
Phosphat-Citrat-Puffer.

Die Eichkurve wurde in einer Konzentrationsreihe mit Phenol durchgeführt.

3.4.0.0 BESTIMMUNGEN IM URIN

3.4.1.0 Hexosaminbestimmung

Die Hexosaminbestimmung wurde im Urin nach der Methode von ELSON und MORGAN (75) durchgeführt.

Als Eichlösung diente eine Glucosaminhydrochloridlösung (D)-Glucosamin-Hydrochlorid puriss., Fluka AG, Buchs, Schweiz) in aufsteigender Konzentration.

Ausführung: 1 ml Urin 1 ml Salzsäure (10 n) wurden für 4 Stunden bei 110°C im Wärmeofen hydrolysiert. Darauf wurden 3 ml aqua dest. zugefügt. Von dieser Lösung wurde 1 ml abgehebert, mit einem Tropfen Phenolphthalein (0.5 % in Alkohol) versetzt und tropfenweise mit Natronlauge (4 n) alkalisch gemacht. Anschließend erfolgte Ansäuern mit 0.5 n HCl bis zur Entfärbung des Phenolphthaleins. Nach der Zugabe von 1 ml Acetylaceton wurde der Ansatz für 45 Minuten in kochendem Wasser erhitzt. Nach Abkühlen auf Zimmertemperatur wurden 3 ml Äthanol und 1 ml Ehrlichs' Reagenz (2.67 % Paradimethylaminobenzaldehyd in Äthanol-conc. HCl 1 : 1) zugegeben. Das Volumen wurde mit Äthanol auf 10 ml aufgefüllt. Nach weiteren 30 Minuten wurde die Extinktion des Farbkomplexes bei 546 nm im "Eppendorf-Photometer" bestimmt.

Als Leerwert lief jeweils ein Ansatz mit, der 1 ml Hydrolysat 9 ml absoluten Alkohol enthielt.

3.4.2.0 Uronsäurebestimmung

Die Bestimmung der Gesamtglucuronsäure in den Urinportionen wurde nach der Methode von DISCHE (76) und YUKI et FISHMAN (77) durchgeführt.

Die Eichkurve wurde mit einer Konzentrationsreihe von Glucuronsäure-standardlösung (D()-Glucuronsäure-Gammalacton = D-Glucuron, Dr. Theodor Schuchardt GmbH & Co., München, Westdeutschland) aufgestellt.

Ausführung: 1 ml Carbonatpuffer (pH : 10.1), 1 ml Jodlösung (0.1 n in KJ), 0.1 ml NaHSO_3 (1 molar) und 0.2 ml Essigsäure (10 n) wurden mit einem Glasstab gut durchgemischt. Darauf erfolgte die Zugabe der Harnverdünnung (hier : 1 zu 20) und 0.7 ml HgCl_2 (0.25 molar). Nach 10minütigem Stehen bei Zimmertemperatur und 3 minütigem Zentrifugieren bei 3000 U/min wurde vom Überstand 1 ml abgehebert und mit 6 ml eines Schwefelsäure-Borat-Puffers (1 molar, pH : 9) versetzt. Nach einer Hydrolyse von 20 Minuten bei 100°C und anschließendem Abkühlen in Eiswasser erfolgte

die Zugabe von Carbazol (0,1 %) für den Hauptwert und von 0.2 ml absoluten Alkohols für den Blindwert; der Ansatz wurde gut geschüttelt, für 10 Minuten bei 100° C gehalten und 5 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert.

Die Extinktionsmessung des Farbkomplexes wurde bei 540 nm im "Beckmann-Photometer" durchgeführt.

4.0.0.0 TABELLARISCHE DARSTELLUNG DES GEWONNENEN
 ZAHLENMATERIALS

In der folgenden Aufführung des Zahlenmaterials werden die folgenden Abkürzungen verwendet:

A: Männliche Tiere der ACTH-Gruppe (Siehe 2.1.2.0)

B: Weibliche Tiere der ACTH-Gruppe (Siehe 2.1.2.0)

C: Männliche Tiere

D: Weibliche Tiere der Prednisolon-21-hemisuccinat-Na-Serie
(Siehe 2.1.1.0)

V: Versuchstiere

K: Kontrolltiere

4.1.0.0 ENZYMAKTIVITÄTEN IM 1. BEZUGSSYSTEM (PROTEIN)

Eine exakte Angabe der freien lysosomalen Aktivität ist nicht möglich, da die Proteinkonzentrationszunahme nach Gabe von ACTH und Prednisolon eine eventuelle Änderung der spezifischen Enzymaktivität verschleiern kann.

In der folgenden Angabe des gewonnenen Zahlenmaterials wurden aus diesem Grund nur die Enzymaktivitäten in der Lysosomenfraktion angeführt.

4.1.1.0 Hyaluronidase (Abb. 1)

Der direkte Nachweis der Hyaluronidase-Aktivität (3.3.1.0) gelang weder im Lysosomenfraktionsüberstand noch in der Lysosomenfraktion.

Nach einer Dialyse von 24 Stunden gegen aqua dest. konnte die Enzymaktivität der Lysosomenfraktion bestimmt werden. Für den Aktivitätsnachweis im Lysosomenfraktionsüberstand mußte die dialysierte Probe gefriergetrocknet werden. Nach Auflösen von 5 mg des Gefriergetrockneten in 1 ml Citrat-Phosphat-Puffer (0.05 molar, pH : 4.1) konnte auch hier die Aktivitätsbestimmung durchgeführt werden.

Durch die Anwesenheit der β -Glucuronidase und der β -Acetylglucosaminidase kommt es zu einem weiteren Abbau der Tetrasaccharide. Daraus resultiert eine größere Zahl von freien N-Acetylglucosamin-Endgruppen, die

eine Angabe der Aktivität in mU nicht gestatten (78).

Die Angabe der Hyaluronidase-Aktivität erfolgte deswegen in Form der Extinktion bei 546 nm/mg Protein im Inkubationsmedium pro Inkubationszeit.

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
3.56	3.58	2.90	2.30	5.48	3.91	5.05	2.00
3.99	3.60	3.46	2.74	5.67	4.22	5.19	2.04
4.27	3.69	3.62	2.74	5.92	4.31	5.60	2.32
6.39	3.78	3.96	2.79	6.36	4.60	5.75	5.12
7.85	3.83	5.19	3.33	6.65	5.62	5.88	5.57
8.35	4.16	5.19	3.43	6.65	6.36	7.57	6.55
8.54	4.27	7.05	3.43	7.68	6.89	8.90	10.80
11.32	5.65	11.01		8.36		11.93	
11.46		12.53		8.70		15.56	
14.66		12.53		9.63		19.41	
		16.74		13.55		23.32	
				13.55		23.55	

4.1.2.0 β -Glucuronidase (Abb. 3)

Eine Einheit (U) gibt die Enzymmenge an, die in 1 Minute bei 37° C und 1 mg Protein den Umsatz von 1 mMol Substrat katalysiert ($1 \text{ mU} = 10^{-3} \text{ U}$). Die Angabe erfolgt in mU.

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
3.15	11.78	2.60	3.23	0.51	3.28	0.64	1.34
5.35	12.25	2.92	3.45	0.83	5.69	1.19	2.52
5.61	12.89	4.29	4.39	0.86	8.16	1.22	2.68
5.92	13.41	5.20	5.38	0.92	9.59	1.57	3.72
10.15	13.92	5.28	5.91	0.95	12.08	2.15	4.19
13.85	15.02	6.42	8.97	0.97	12.71	3.14	4.76
14.42	16.82	6.62	11.31	1.18	21.30	3.42	8.13
15.09	18.10	9.05		1.18		4.24	
15.62		10.22		1.57		4.81	
15.83		12.18		1.58		5.01	
20.02		30.01		1.64		6.11	
				4.53		6.21	

4.1.3.0 β -Acetylglucosaminidase (Abb. 5)

Eine Einheit (U) gibt die Enzymmenge an, die in 1 Minute bei 37° C und 1 mg Protein den Umsatz von 1 mMol Substrat katalysiert (1 mU = 10⁻³ U). Die Angabe erfolgt in mU.

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
87.8	32.7	82.6	53.2	78.1	44.0	94.4	33.8
142.7	46.3	115.4	64.5	93.4	44.2	95.2	48.1
150.6	58.7	135.2	87.6	109.1	55.4	99.0	55.9
157.1	64.0	146.1	92.6	113.5	57.2	106.8	70.2
168.9	75.4	151.7	101.4	115.5	87.0	121.3	81.8
187.8	99.7	165.2	102.9	118.0	100.3	130.0	118.3
199.6	101.5	166.7	103.4	127.9	109.4	142.7	122.5
199.6	140.7	174.8		131.2		156.2	
206.4		194.4		134.7		174.4	
228.4		221.4		167.6		179.5	
235.9		221.7		179.9		209.0	
				211.7		214.2	

4.2.0.0 ENZYMAKTIVITÄT IM 2. BEZUGSSYSTEM (DNS)

Um den Einfluß der Zellzahl als Bezugsgröße der Enzymaktivitäten zu erfassen, erfolgt hier die Angabe in: Extinktion des Enzyms / μ g DNS pro g Frischgewebe.

4.2.1.0 Hyaluronidase (Abb. 2)

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
0.139	0.097	0.090	0.082	0.103	0.073	0.028	0.008
0.139	0.113	0.119	0.095	0.125	0.135	0.044	0.010
0.155	0.119	0.144	0.112	0.189	0.142	0.046	0.013
0.191	0.119	0.151	0.117	0.198	0.176	0.051	0.025
0.224	0.133	0.160	0.121	0.220	0.182	0.057	0.038
0.267	0.153	0.194	0.123	0.257	0.214	0.084	0.049
0.274	0.181	0.201		0.293	0.268	0.086	0.100
0.275	0.205	0.201		0.302		0.101	
0.312		0.225		0.308		0.106	
0.342		0.243		0.322		0.120	
				0.340		0.140	
				0.384		0.191	

4.2.2.0 β -Glucuronidase (Abb. 4)

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
0.34	1.39	1.34	1.17	0.11	0.82	0.09	0.17
0.45	1.60	1.34	1.19	0.20	1.48	0.16	0.17
0.48	1.77	1.49	1.58	0.21	2.00	0.17	0.18
0.97	1.99	1.69	1.77	0.22	2.26	0.23	0.41
1.27	2.19	1.80	1.98	0.25	2.45	0.34	0.48
1.47	2.16	2.26	5.42	0.28	5.38	0.43	0.72
1.52	2.32	2.50		0.28	5.89	0.61	1.38
1.65	2.84	2.80		0.47		0.64	
2.61		5.03		0.50		0.70	
3.92		10.52		0.52		0.84	
				0.54		0.98	
						1.20	

4.2.3.0 β -Acetylglucosaminidase (Abb. 6)

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
1.25	0.45	1.56	1.17	1.05	0.81	0.71	0.35
1.42	0.52	1.61	1.18	1.18	0.85	1.12	0.43
1.44	0.71	1.80	1.31	1.50	1.18	1.15	0.83
1.62	0.83	1.80	1.33	1.51	1.34	1.24	0.85
1.71	0.84	1.81	1.37	1.71	1.38	1.65	1.10
1.77	1.15	2.08	1.54	1.84	1.39	1.65	1.35
2.01	1.27	2.16		2.40	1.70	1.77	1.90
2.19	1.49	2.44		2.40		1.92	
3.54		2.93		2.45		2.18	
4.19		3.19		3.27		2.30	
				3.40		2.45	
						2.50	

4.3.0.0 KORRELATIONSSTATISTISCHE EINTEILUNG

4.3.1.0 Vergleich der Aktivitäten in den 2 Bezugssystemen:

DNS- und Proteinbezugssystem

4.3.1.1 Hyaluronidase (Abb. 7)

x = Hyaluronidase (E/ug DNS in 1 g Frischgewebe)

y = Hyaluronidase (E/mg Protein im Inkubationsmedium)

A und B				C und D			
x	y	x	y	x	y	x	y
0.151	5.19	0.312	11.32	0.041	5.05	0.103	6.65
0.119	3.96	0.342	8.35	0.101	7.57	0.384	13.55
0.194	12.53	0.274	7.85	0.084	8.90	0.257	6.65
0.090	2.90	0.139	6.39	0.057	5.75	0.322	7.68
0.160	3.46	0.224	14.66	0.046	5.88	0.189	8.70
0.201	5.19	0.139	3.99	0.051	5.60	0.340	9.630
0.201	12.53	0.155	4.27	0.028	5.19	0.293	6.36
0.243	16.74	0.191	3.56	0.086	11.93	0.308	13.55
0.201	11.01	0.267	8.54	0.140	15.56	0.302	5.67
0.144	3.62	0.275	11.46	0.120	23.55	0.125	5.48
				0.191	23.32	0.198	8.36
				0.106	19.41	0.220	5.92

4.3.1.2 β -Glucuronidase (Abb. 8, 9)

x = β -Glucuronidase (E/ug DNS in 1 g Frischgewebe)

y = β -Glucuronidase (mU)

A und B				C und D			
x	y	x	y	x	y	x	y
10.52	30.01	1.65	20.02	1.20	4.81	0.22	0.93
2.50	9.05	1.27	14.42	0.70	3.42	0.28	1.57
2.80	4.29	0.34	5.35	0.84	3.14	0.50	1.18
1.34	2.92	2.61	15.62	0.43	4.24	0.25	0.51
1.69	5.20	1.52	5.09	0.61	6.11	0.20	0.87
5.03	12.18	0.48	3.15	0.98	6.21	0.28	0.84
2.26	10.22	0.97	5.92	0.18	2.15	0.47	1.58
1.49	6.62	3.92	15.83	0.64	5.01	0.21	1.18
1.34	5.28	1.47	13.85	0.17	1.19	0.52	0.97
1.80	6.42	0.45	5.61	0.23	1.57	0.54	1.64
				0.35	1.22	0.11	0.96
				0.09	0.64	3.04	4.53

4.3.1.3 β -Acetylglucosaminidase (Abb. 10, 11)

x = β -Acetylglucosaminidase (E/ μ g DNS und 1 g Frischgewebe)

y = β -Acetylglucosaminidase (mU)

A und B				C und D			
x	y	x	y	x	y	x	y
3.54	237.0	2.16	146.1	1.92	100.1	3.40	212.1
1.44	189.0	1.81	151.7	1.65	144.7	1.51	168.7
4.20	229.3	3.18	115.4	1.65	121.8	2.40	118.6
2.01	143.2	1.56	83.2	2.45	210.0	3.27	136.0
1.71	200.1	1.80	135.2	2.30	215.2	1.50	128.3
1.42	151.0	1.61	166.8	2.18	180.4	1.71	116.2
1.62	157.9	1.80	194.4	0.71	107.9	2.40	131.7
1.25	169.9	2.93	221.2	1.77	175.1	1.18	93.8
1.77	199.9	2.44	221.4	1.12	95.1	1.84	114.4
2.18	207.0	2.07	174.8	1.15	95.8	1.05	180.3
				2.50	130.6	2.45	105.5
				1.24	157.2		

4.3.2.0 Korrelation der Aktivitäten der Glycosaminoglycano-Hydro-l-
asen

4.3.2.1 β -Glucuronidase (mU) / β -Acetylglucosaminidase (mU)
(Abb. 12, 13)

x = β -Acetylglucosaminidase (mU)

y = β -Glucuronidase (mU)

A und B				C und D			
x	y	x	y	x	y	x	y
146.1	30.01	235.99	20.02	99.04	6.11	211.76	0.92
151.7	9.05	187.8	14.42	142.74	3.42	167.60	1.57
115.4	4.29	228.4	5.35	121.30	3.14	118.02	1.18
83.2	2.92	142.7	15.62	209.04	4.24	134.73	0.51
135.2	5.20	199.6	5.09	214.30	4.81	127.98	0.86
166.7	12.18	150.6	3.15	179.60	6.21	78.18	0.83
194.4	10.22	157.1	5.92	106.90	2.15	115.58	1.58
221.7	6.62	168.9	15.83	174.40	5.01	131.27	1.18
221.4	5.28	199.6	13.85	94.48	1.19	93.46	0.97
174.8	6.42	206.4	5.61	95.22	1.57	113.53	1.64
				130.02	1.22	179.99	0.95
				156.20	0.64	105.16	4.53

4.3.2.2 β -Acetylglucosaminidase / Hyaluronidase (Abb. 14, 15)

x = Hyaluronidase (E/mg Protein im Inkubationsmedium)

y = β -Acetylglucosaminidase (mU)

A und B				C und D			
x	y	x	y	x	y	x	y
5.19	146.1	11.32	235.9	5.05	99.04	13.55	211.7
3.96	151.7	8.35	187.8	7.57	142.74	6.65	167.6
12.53	115.4	7.85	228.4	8.90	121.30	6.65	118.0
2.90	83.2	6.39	142.7	23.32	209.04	7.68	134.7
3.46	135.2	14.66	199.6	23.55	214.28	9.63	127.9
5.19	166.7	3.99	150.6	5.60	179.58	8.70	78.1
12.53	194.4	4.27	157.1	5.19	106.86	6.36	115.5
16.74	221.2	3.56	168.9	11.93	174.40	13.55	131.2
11.01	221.4	8.54	199.6	15.56	94.48	5.67	93.4
3.62	174.8	11.46	206.4	5.75	95.22	5.48	113.5
7.05	165.2			5.88	130.02	8.36	179.9
				19.41	156.20	5.92	105.1

4.3.2.3 β -Glucuronidase / Hyaluronidase

Eine Korrelation dieser Enzyme erübrigt sich aufgrund der Ergebnisse aus (4.3.2.1) und (4.3.2.2).

4.4.0.0 PROTEINGEHALT

Die Angabe des Proteingehaltes im Lysosomenfraktionsüberstand bzw. in der Lysosomenfraktion vor und nach der Dialyse erfolgte in mg/ml.

4.4.1.0 Proteingehalt im Lysosomenfraktionsüberstand (Abb. 16)

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
16.10	14.70	26.07	21.70	17.64	16.03	12.95	14.31
19.60	17.71	28.00	22.05	19.39	18.17	13.54	18.90
20.30	20.65	31.15	22.40	19.74	19.46	13.82	20.05
23.45	22.06	31.43	24.15	20.51	20.65	14.94	20.89
24.85	22.26	33.60	26.42	20.58	21.00	15.78	21.49
25.55	24.15	33.74	31.64	21.95	21.63	16.10	23.10
26.25	26.39	33.88	31.71	22.05	22.54	17.85	23.59
31.85	31.43	35.70		31.78		19.88	
31.99		36.40		38.01		21.00	
37.10		37.03		39.90		22.05	
		40.04		43.82		22.75	
				44.52		27.65	

4.4.2.0

Proteingehalt in der Lysosomenfraktion vor der Dialyse
(Abb. 17)

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
1.75	4.55	2.45	3.64	2.10	4.13	1.22	1.05
2.10	5.04	2.52	4.20	2.17	4.20	1.47	1.37
2.24	5.60	2.66	4.38	2.42	5.18	1.50	1.54
3.08	5.74	2.70	4.48	2.80	6.72	1.54	1.75
3.08	5.95	2.90	4.73	3.05	7.14	2.06	1.96
3.08	6.51	3.22	5.18	3.19	8.05	2.17	2.10
3.10	6.72	3.54	6.72	3.99	9.24	2.24	3.92
3.43	7.07	3.68		4.27		2.30	
4.66		4.73		4.34		2.38	
4.80		5.07		4.52		2.45	
		5.60		4.55		3.57	
				5.18		3.70	

4.4.3.0

Proteingehalt in der Lysosomenfraktion nach der Dialyse
(Abb. 18)

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
0.20	0.32	0.24	0.39	0.15	0.23	0.08	0.07
0.22	0.38	0.26	0.43	0.16	0.24	0.08	0.09
0.26	0.41	0.27	0.46	0.16	0.25	0.09	0.12
0.27	0.43	0.27	0.46	0.17	0.27	0.11	0.14
0.27	0.47	0.28	0.46	0.19	0.28	0.11	0.15
0.29	0.47	0.29	0.57	0.19	0.29	0.14	0.16
0.34	0.47	0.29	0.62	0.21	0.31	0.14	0.17
0.35	0.54	0.31		0.22	0.37	0.15	
0.35		0.38		0.23		0.16	
0.39		0.46		0.24		0.17	
				0.26		0.20	
				0.29		0.20	

4.5.0.0 DNS - GEHALT (Abb. 21)

Der Desoxyribonucleinsäuregehalt wurde auf das entsprechende Organfrischgewicht bezogen und in μg DNS pro Gramm Frischgewebe angegeben (μg DNS/g Frischgewebe).

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
47.15	99.35	48.76	59.15	40.16	68.20	124.65	139.88
58.31	112.43	56.74	69.53	41.66	68.50	125.44	155.70
60.53	123.64	63.88	77.71	41.94	69.10	144.45	156.60
68.29	129.91	65.00	79.00	46.41	82.80	145.00	158.44
79.45	130.84	66.64	81.74	48.67	85.75	148.91	158.82
81.85	136.25	68.53	103.16	52.58	124.80	150.10	160.61
86.31	141.16	70.71		68.27	135.00	150.20	184.43
86.40	161.02	70.80		68.90		155.90	
90.79		76.44		70.54		161.04	
95.01		91.16		85.56		163.08	
118.64				89.44		184.83	

4.6.0.0 BESTIMMUNGEN DER URINE

4.6.1.0 Hexosamin (Abb. 19)

Die Angabe des Hexosamingehaltes im Urin erfolgte in μg pro Stunde und Tier ($\mu\text{g}/\text{h}$ und Tier).

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
17.61	17.62	5.00	11.82	14.25	22.33	11.54	18.46
20.18	22.42	9.61	19.89	18.09	22.72	13.85	19.99
20.35	27.64	10.24	22.37	18.48	24.26	15.83	19.99
23.87	30.76	12.16	25.76	20.02	28.49	18.45	21.53
25.63	31.24	19.21	27.56	20.79	30.42	20.77	38.45
26.92	31.40	19.37	29.53	23.87	40.43	36.92	41.16
29.86	45.91	20.49	31.91				
30.60	68.25	20.83	47.68				
44.86	89.72	39.81	54.98				
75.29	99.33						

4.6.2.0

Gesamtglucuronsäure (Abb. 20)

Die Angabe des Gesamtglucuronsäuregehaltes im Urin erfolgte in μg pro Stunde und Tier ($\mu\text{g}/\text{h}$ und Tier)

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
112.54	72.29	24.34	99.49	114.59	143.51	65.33	87.82
128.64	111.16	48.64	110.96	114.59	144.58	68.54	97.46
131.57	112.58	50.16	136.95	116.74	156.36	106.03	131.73
164.93	115.58	67.74	142.44	128.52	163.86	108.17	131.73
167.07	117.14	105.39	177.78	132.80	167.08	151.01	173.50
167.31	164.93	108.38	192.63	132.80	183.14	160.72	186.35
171.54	176.36	184.68	216.82				
200.09	214.65	189.70	307.95				
201.36	331.96	256.64	315.36				
278.53	445.80						

4.7.0.0

LEBERGEWICHT (Abb. 22)

Es wurden hier die Quotienten aus Leber- und Lebend-Gewicht untersucht.

Die angegebenen Werte stellen also dimensionslose Zahlen dar.

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
0.0288	0.0362	0.0310	0.0361	0.0325	0.0380	0.0296	0.0330
0.0297	0.0363	0.0331	0.0362	0.0336	0.0414	0.0301	0.0346
0.0307	0.0366	0.0336	0.0388	0.0341	0.0423	0.0317	0.0352
0.0318	0.0380	0.0336	0.0393	0.0342	0.0426	0.0323	0.0359
0.0325	0.0400	0.0337	0.0410	0.0352	0.0435	0.0325	0.0377
0.0329	0.0403	0.0361	0.0425	0.0364	0.0443	0.0327	0.0419
0.0336	0.0416	0.0361	0.0430	0.0366	0.0455	0.0341	
0.0346	0.0440	0.0372		0.0371	0.0497	0.0354	
0.0348		0.0374		0.0378		0.0359	
0.0360		0.0386		0.0383		0.0381	
0.0370		0.0392		0.0428			
				0.0433			

4.8.0.0

QUOTIENT AUS END- UND ANFANGSGEWICHT

Es wurden hier die Quotienten aus den Lebendgewichten am Tag der Tötung und Anfang des Versuches untersucht.

Die angegebenen Werte stellen also dimensionslose Zahlen dar.

A		B		C		D	
V	K	V	K	V	K	V	K
1.324	1.596	1.197	1.268	1.101	1.226	0.908	0.966
1.340	1.621	1.222	1.285	1.134	1.232	0.911	0.990
1.412	1.648	1.259	1.297	1.163	1.268	0.932	1.007
1.448	1.668	1.262	1.364	1.170	1.289	0.937	1.010
1.474	1.681	1.270	1.366	1.174	1.302	0.946	1.018
1.492	1.683	1.284	1.379	1.194	1.310	0.950	1.034
1.505	1.766	1.292	1.391	1.198	1.333	0.958	1.043
1.621	1.811	1.292		1.216	1.379	0.969	
1.668		1.303		1.223		0.970	
1.671		1.349		1.236		0.970	
1.702		1.452		1.238		1.000	
				1.257		1.020	

5.0.0.0 STATISTIK

Alle biologischen Vorgänge sind zufälligen Schwankungen unterworfen. Bei der Frage der Effektivität einer bestimmten Behandlung ergeben sich 2 mögliche Antworten. Erstens kann eine Änderung in einem bestimmten System "rein zufällig" oder zweitens "nicht rein zufällig" entstanden sein. Sich für eine der beiden Aussagen zu entscheiden bei der quantitativen Beurteilung variabler Vorgänge ist nur durch statistische Verfahren möglich.

Die Statistik gibt die Wahrscheinlichkeit (probability) an, mit der ein beobachteter Unterschied durch Zufall auftreten kann. Ist die Wahrscheinlichkeit sehr gering, wird das Ergebnis als signifikant bezeichnet.

5.1.0.0 STICHPROBE - GRUNDGESAMTHEIT

Bei der Durchführung der Versuche stehen uns jeweils nur eine begrenzte Zahl an Versuchsobjekten und damit eine begrenzte Zahl von Zufallsvariablen zur Verfügung. Würde man den Ansatz - in Gedanken - mit einer Anzahl durchführen, die gegen ∞ strebt, so hätte man es mit der Grundgesamtheit (Population) zu tun. Hierin wären alle denkbaren Beobachtungen enthalten.

Das von uns beobachtete Intervall stellt aber nur einen kleinen Abschnitt der Population dar, wir überblicken die Stichprobe (sample). Wenn wir dennoch zu einer gültigen Schlußfolgerung kommen wollen, muß gesichert sein, daß die Stichprobe zufällig aus der Grundgesamtheit gegriffen wurde.

5.2.0.0 MITTELWERT - STANDARDABWEICHUNG - VARIANZ

Durch die Angabe des Mittelwertes, der Standardabweichung und der Varianz ist eine Stichprobe festgelegt.

Der arithmetische Mittelwert errechnet sich aus der Summe der Variablen dividiert durch den Stichprobenumfang.

Es gilt

$$\bar{x} = \frac{Sx}{n}$$

n = Stichprobenumfang
(= Anzahl der Variablen)

x = Einzelwert der Variablen

$\bar{x}$ = Mittelwert

Die Standardabweichung ist gleich der Wurzel aus dem Mittelwert der quadratischen Abweichungen.

Es gilt

$$s = \frac{Sx^2 - \frac{(Sx)^2}{n}}{n - 1}$$

s = Standardabweichung
 Sx^2 = Summe der Einzelwertquadrate
 $(Sx)^2$ = Einzelwertsumme im Quadrat
 n = Stichprobenumfang

Das Quadrat der Standardabweichung ergibt die Varianz.

Es gilt

$$s^2 = \frac{Sx^2 - \frac{(Sx)^2}{n}}{n - 1}$$

5.3.0.0 t-TEST ZUR PRÜFUNG DES UNTERSCHIEDES VON MITTELWERTEN KLEINER, UNABHÄNGIGER STICHPROBEN

Unabhängige Stichproben liegen dann vor, wenn die Werte der einen Stichprobe vollständig unabhängig von den Werten der anderen sind. Der Mittelwertsunterschied kleiner Stichproben unterliegt Zufallsschwankungen. Er ist dann wesentlich oder signifikant, wenn er größer ist als die möglichen Zufallsunterschiede kleiner Stichproben aus der selben Grundgesamtheit. Dies kann mit dem t-Wert bestimmt werden. Voraussetzung ist eine Normalverteilung der Zufallsvariablen.

Es gilt

$$t = \frac{\bar{x}_2 - \bar{x}_1}{s} \cdot \frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}$$

$$s = \frac{Sx_1^2 - \frac{(Sx_1)^2}{n_1} + Sx_2^2 - \frac{(Sx_2)^2}{n_2}}{n_1 + n_2 - 2}$$

wobei

$\bar{x}_1, \bar{x}_2$ = Mittelwerte der 2 zu untersuchenden Stichproben

s = Standardabweichung zum Mittelwertsunterschied

Sx^2 = Summe der Einzelquadrate

$(Sx)^2$ = Einzelwertsumme im Quadrat

5.4.0.0 KORRELATIONSKOEFFIZIENT r UND REGRESSIONSGERADE

5.4.1.0 Korrelationskoeffizient r

Durch r wird der Zusammenhang zwischen jeweils 2 Variablen angegeben. In der vorliegenden Untersuchung sind beide Variablen Zufallsschwankungen unterworfen, es handelt sich um zweidimensionale Zufallsvariablen. Dabei kann die Art des Zusammenhanges (= Korrelation) schwach oder stark sein. Es gilt

$$r = \frac{Sxy - \frac{(Sx)(Sy)}{n}}{Sx^2 - \frac{(Sx)^2}{n} \quad Sy^2 - \frac{(Sy)^2}{n}}$$

wobei Sxy = Summe der Variabelnprodukte

Sx, Sy = Summe der Variablen

$(Sx)^2, (Sy)^2$ = Variabelnsumme im Quadrat

n = Anzahl der Wertepaare

Die Bewertung des Korrelationskoeffizienten erfolgt nach der STUDENT-Verteilung

$$t = r \frac{n-2}{1-r^2} \quad \begin{array}{l} r = \text{absoluter Betrag des} \\ \text{Korrelationskoeffizienten} \\ n = \text{Anzahl der Wertepaare} \end{array}$$

5.4.2.0 Regressionsgerade

Sind genügend Datenpaare vorhanden, so kann man - approximativ - eine Gerade angeben, welche die Schätzung von y an x erlaubt.

Es gilt allgemein

$$y = bx + a$$

a: Schnittpunkt der Geraden mit der y-Achse

b: tg der Geradensteigung (= Regressionskoeffizient)

Speziell gilt

$$b = \frac{S_{xy} - \frac{(S_x)(S_y)}{n}}{S_x^2 - \frac{(S_x)^2}{n}} \quad a = \bar{y} - b\bar{x}$$

5.5.0.0 DER VERGLEICH ZWEIER UNABHÄNGIGER STICHPROBEN NACH DEM U-TEST VON WILCOXON, MANN UND WHITNEY

Geprüft wird, ob voneinander unabhängige Stichproben der selben Grundgesamtheit angehören oder nicht. Dazu werden die Variabelnwerte in eine gemeinsame aufsteigende Rangfolge gebracht. Es wird hierbei nicht direkt mit den Meßwerten, sondern mit den Rangzahlen gerechnet.

Es handelt sich um ein verteilungsunabhängiges Verfahren.

Die Prüfgröße U ergibt sich aus

$$U_1 = mn \frac{m(m+1)}{2} - R_1 \quad \text{Kontrolle durch: } U_1 + U_2 = mn$$

$$U_2 = mn \frac{n(n+1)}{2} - R_2$$

wobei m, n : Stichprobenumfang der 2 zu vergleichenden Reihen

R_1, R_2 : Rangzahlensumme des jeweiligen Stichprobenumfanges

Das Ergebnis ist wesentlich, wenn der kleinere U-Wert gleich oder kleiner einem kritischen U-Wert aus der Tabelle ist.

5.6.0.0 SIGNIFIKANZSCHRANKEN

Die Größe der Irrtumswahrscheinlichkeit, gleichbedeutend mit der Aussage "Es liegt ein wesentlicher Unterschied vor", wurde wie folgt bewertet:

	p	5 %	nicht signifikant
1 %	p	5 %	leicht signifikant
1 %	p	1 %	signifikant
	p	1 %	hoch signifikant

Innerhalb des vorangegangenen Textes wurden mit Absicht keine Literaturhinweise eingefügt. Die angegebene Methodik ist allgemeingültig und findet sich in allen einschlägigen Fachwerken verzeichnet.

Die hier verwendeten Quellen sind im Anschluß an das Literaturverzeichnis angegeben.

6.0.0.0 ERGEBNISSE

Bei der Darstellung der Ergebnisse wurden bei der Bezeichnung der vier Versuchsgruppen dieselben Symbole verwendet, wie dies bei der tabellari-
schen Darstellung des gewonnenen Zahlenmaterials (4.0.0.0) geschah.

Die Werte der berechneten Grundgrößen der verschiedenen Versuchsgruppen und die bei den statistischen Tests ermittelten Zahlen wurden jeweils in einer Tabelle dem betreffenden Thema vorangestellt.

Untersucht wurde jeweils innerhalb einer Gruppe das Verhalten des gewon-
nenen Zahlenmaterials von Kontroll- zu Versuchstieren.

Bei den korrelationsstatistischen Untersuchungen wurden die Gruppen A
und B sowie C und D zusammengefaßt und getrennt betrachtet, um eventuell
Unterschiede nach der Gabe von Acetropan^R und Solu Decortin-H^R fest-
stellen zu können.

6.1.0.0 ENZYMAKTIVITÄTEN (Bezugsgröße: Protein)

	Kapitel	Gruppe	Grundgrößen						t-Test			U-Test				
			Versuchstiere			Kontrolltiere			x _s	t	p	R ₁	U ₁	R ₂	U ₂	p
			n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s								
6.1.1.0		A	10	8.04	23.65	8	3.61	22.12	3.08	2.97	<0.005	122.5	12.5	46.5	67.5	<0.01
		B	11	7.65	24.73	7	3.00	20.44	2.07	2.56	<0.01	140.0	3	31.0	74.0	<0.001
		C	12	8.18	22.01	7	5.13	21.16	2.36	2.71	<0.01	151.5	10.5	38.5	73.5	<0.005
		D	12	11.47	27.10	7	4.91	23.10	6.08	2.27	<0.025	147.0	15.0	43.0	69.0	<0.025
6.1.2.0		A	11	11.35	25.58	8	14.27	22.23	4.52	1.38	<0.10	101.0	53.0	89.0	35.0	<0.10
		B	11	8.62	27.68	8	6.10	23.14	6.32	0.86	<0.25	110.0	33.0	61.0	33.0	<0.10
		C	12	1.38	20.85	7	10.40	23.85	3.67	5.05	<0.0005	78.0	84.0	112.0	0	<0.001
		D	12	3.31	21.99	7	3.81	22.18	2.06	0.51	<0.30	115.0	47.0	75.0	37.0	<0.10
6.1.3.0		A	11	178.6	242.9	8	77.5	234.9	39.8	5.47	<0.0005	151.0	3.0	38.0	85.0	<0.001
		B	11	168.7	242.0	7	86.6	220.1	35.4	4.33	<0.0005	138.0	5.0	33.0	72.0	<0.001
		C	12	131.4	237.9	7	71.1	227.3	34.6	3.67	<0.0025	156.0	6.0	34.0	78.0	<0.001
		D	12	143.6	243.1	7	75.8	234.12	40.2	3.54	<0.0025	153.0	9.0	37.0	75.0	<0.005

6.1.1.0 Hyaluronidase (Abb. 1)

Bei allen Gruppen konnte eine Aktivitätszunahme in der Lysosomenfraktion der Versuchstiere festgestellt werden.

Im Einzelnen errechnete sich die statistische Irrtumswahrscheinlichkeit wie folgt:

- a. bei der Gruppe A ergab sich eine signifikante Zunahme
- b. bei der Gruppe B fand sich eine signifikante Zunahme
- c. bei der Gruppe C war die Zunahme signifikant
- d. bei der Gruppe D resultierte eine leicht signifikante Steigerung

6.1.2.0 β -Glucuronidase (Abb. 3)

Es zeigten sich folgende Unterschiede:

- a. bei der Gruppe A eine Aktivitätsabnahme in der Lysosomenfraktion der Versuchstiergruppe um 21 %, die mit $p = 0.10$ statistisch nicht signifikant war
- b. bei der Gruppe C war die Aktivitätsverringering in der Lysosomenfraktion hochsignifikant
- c. bei der Gruppe B imponierte eine leichte Aktivitätszunahme in der Lysosomenfraktion, die mit $p = 0.25$ statistisch nicht signifikant war
- d. bei der Gruppe D fand sich ein Unterschied, der mit $p = 0.30$ nicht signifikant war

6.1.3.0 β -Acetylglucosaminidase (Abb. 5)

Bei allen vier Gruppen fand sich eine Aktivitätszunahme in der Lysosomenfraktion der Versuchstiere.

Bei der statistischen Berechnung des Zahlenmaterials ergaben sich folgende Ergebnisse:

- bei der Gruppe A fand sich eine hochsignifikante Aktivitätszunahme
- bei der Gruppe B fand sich eine hochsignifikante Aktivitätssteigerung
- bei der Gruppe C imponierte eine signifikante Aktivitätserhöhung
- bei der Gruppe D war der Aktivitätsanstieg signifikant

6.2.0.0 ENZYMAKTIVITÄTEN (Bezugsgröße : DNS)

Kapitel	Gruppe	Grundeinheiten						t-Test			U-Test				
		Versuchstiere			Kontrolltiere			$\pm s$	t	p	R_1	U_1	R_1	U_1	p
		n	$\bar{Y}$	$\pm s$	n	$\bar{Y}$	$\pm s$								
6.2.1.0	A	10	0,23	0,07	8	0,14	0,04	0,06	3,18	<0,005	126,0	9	45,0	71,0	<0,005
	B	10	0,17	0,05	6	0,11	0,02	0,04	3,15	<0,005	108,0	7	28,0	53,0	<0,01
	C	12	0,25	0,09	7	0,17	0,06	0,08	2,20	<0,025	145,0	17	45,0	67,0	<0,025
	D	12	0,086	0,04	7	0,035	0,03	0,04	2,65	<0,01	151,0	11	39,0	73,0	<0,01
6.2.2.0	A	10	1,46	1,10	8	2,05	0,43	0,87	1,42	<0,10	73,0	62	98,0	18,0	<0,05
	B	10	3,07	2,84	6	2,18	1,62	2,51	0,68	<0,30	94,0	21	42,0	39,0	<0,10
	C	12	0,557	0,79	7	2,89	1,95	1,32	3,76	<0,0025	66,0	77	105,0	0	<0,001
	D	12	0,608	0,35	7	0,504	0,44	0,38	0,57	<0,30	123,0	39	67,0	45,0	<0,10
6.2.3.0	A	10	0,11	0,97	8	0,911	0,36	0,77	3,29	<0,0025	131,0	4	44,0	76,0	<0,001
	B	10	0,14	0,55	6	1,32	0,13	0,45	3,51	<0,0025	115,0	0	21,0	60,0	<0,001
	C	11	2,06	0,79	7	1,24	0,32	0,65	2,61	<0,01	131,5	11,5	39,5	65,5	<0,01
	D	12	1,72	0,56	7	0,97	0,29	0,56	2,78	<0,01	148,0	14,6	42,0	70,0	<0,01

6.2.1.0 Hyaluronidase (Abb. 2)

Bei allen Gruppen konnte eine Aktivitätszunahme in der Lysosomenfraktion der Versuchstiere festgestellt werden.

Im Einzelnen errechnete sich die statistische Irrtumswahrscheinlichkeit wie folgt:

- bei der Gruppe A ergab sich eine signifikante Aktivitätszunahme
- bei der Gruppe B fand sich eine signifikante Aktivitätszunahme
- bei der Gruppe C war die Aktivitätszunahme leicht signifikant
- bei der Gruppe D resultierte eine signifikante Aktivitätssteigerung

6.2.2.0 β -Glucuronidase (Abb. 4)

Es wurden folgende Unterschiede gefunden:

- a. bei der Gruppe A ergab sich eine Aktivitätsabnahme in der Lysosomenfraktion der Versuchstiere, die mit $p = 0.10$ statistisch nicht signifikant war
- b. bei der Gruppe C war die Aktivitätsverringering signifikant
- c. bei der Gruppe B imponierte eine leichte Zunahme der Enzymaktivität, die mit $p = 0.30$ statistisch nicht zu sichern war
- d. bei der Gruppe D fand sich ein Unterschied, der mit $p = 0.30$ statistisch nicht wesentlich war

6.2.3.0 β -Acetylglucosaminidase (Abb. 6)

Übereinstimmend fand sich bei allen Gruppen eine Aktivitätszunahme in der Lysosomenfraktion der Versuchstiere.

Es ergaben sich folgende statistische Sicherungen:

- a. bei der Gruppe A fand sich eine signifikante Aktivitätszunahme
- b. bei der Gruppe B ergab sich eine signifikante Aktivitätssteigerung
- c. bei der Gruppe C imponierte eine signifikante Aktivitätserhöhung
- d. bei der Gruppe D war der Aktivitätsanstieg signifikant

6.3.0.0 VERGLEICH DER AKTIVITÄTEN IN DEN 2 BEZUGSSYSTEMEN

Hierbei sollte festgestellt werden, ob - und wie stark - eine Korrelation zwischen den Enzymaktivitäten in dem Protein- und DNS-Bezugssystem besteht.

6.3.1.0 Hyaluronidase (Abb. 7)

- a. bei den Gruppen A und B ergaben 20 Wertepaare ein $r = 0.530$,
bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p = 0.01$
- b. bei den Gruppen C und D ergaben 24 Wertepaare ein $r = 0.11$,
bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p = 0.35$

6.3.2.0 β -Glucuronidase (Abb. 8, 9)

- a. bei 20 Wertepaaren der Gruppen A und B konnte $r = 0.759$
bestimmt werden, was einer Irrtumswahrscheinlichkeit von
 $p = 0.0005$ entsprach
- b. bei 24 Wertepaaren der Gruppen C und D wurde $r = 0.565$ bestimmt;
das entsprach einem $p = 0.0025$

6.3.3.0 β -Acetylglucosaminidase (Abb. 10, 11)

- a. bei den Gruppen A und B (20 Wertepaare) errechnete sich
 $r = 0.447$, damit wird $p = 0.025$
- b. bei den Gruppen C und D (23 Wertepaare) wurde $r = 0.394$
bestimmt, daraus folgte $p = 0.05$

Aus den Ergebnissen in 6.3.1.0, 6.3.2.0 und 6.3.3.0 geht hervor, daß die Angabe der Enzymaktivitäten in beiden Bezugssystemen - bis auf die Gruppe C und D der Hyaluronidaseaktivitätsmessung - gleiche Aussagen ermöglicht.

6.4.0.0 VERGLEICH DER ENZYMAKTIVITÄTEN

Um ein eventuell bestehendes gleichsinniges Verhalten der Enzyme feststellen zu können, wurde jeweils der Zusammenhang zwischen 2 Enzymen korrelationsstatistisch bearbeitet.

6.4.1.0 Korrelation zwischen β -Acetylglucosaminidase (mU) und β -Glucuronidase (mU) (Abb. 12, 13)

- a. bei den Gruppen A und B wurde $r = 0.0982$ errechnet, daraus ergab sich $p = 0.30$
- b. bei den Gruppen C und D ergaben sich $r = 0.276$ und damit $p = 0.10$

Daraus geht hervor, daß zwischen den Enzymen β -Acetylglucosaminidase und β -Glucuronidase kein statistisch signifikanter Zusammenhang besteht.

6.4.2.0 Korrelation zwischen β -Acetylglucosaminidase (mU) und Hyaluronidase (E/mg Protein im Inkubationsmedium) (Abb. 14, 15)

- a. bei den Gruppen A und B ergaben sich folgende Ergebnisse:
 $r = 0.615$ und $p = 0.0025$
- b. die Gruppen C und D zeigten folgende Werte:
 $r = 0.590$ und $p = 0.0025$

Auf Grund der statistisch gewonnenen Werte kann ein signifikanter Zusammenhang zwischen den beiden Enzymen angenommen werden.

6.4.3.0 Korrelation zwischen β -Glucuronidase (mU) und Hyaluronidase (E/mg Protein im Inkubationsmedium)

Aus dem Verhalten der genannten Enzyme in 6.4.1.0 und 6.4.2.0 konnte auf eine korrelationsstatistische Untersuchung dieser Frage verzichtet werden.

6.5.0.0 PROTEINGEHALT

Kapitel	Gruppe	Grundgrößen						t-Test			U-Test				
		Versuchstiere			Kontrolltiere			s	t	p	R ₁	U ₁	R ₂	U ₂	p
		n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s								
6.5.1.0	A	10	25.72	6.45	8	22.42	5.14	5.91	1.17	<0.15	107.0	28.0	64.0	52.0	<0.10
	B	11	33.36	4.07	7	25.72	4.37	4.18	3.84	<0.0025	134.0	9.0	37.0	68.0	<0.005
	C	12	28.32	10.49	7	19.93	2.23	8.54	2.06	<0.05	135.0	27.0	55.0	57.0	<0.10
	D	12	18.18	4.56	7	20.33	3.12	4.11	1.10	<0.15	185.0	57.0	85.0	27.0	<0.10
6.5.2.0	A	10	3.13	1.00	8	5.89	0.85	0.94	6.18	<0.0005	57.0	78.0	114.0	2.0	<0.001
	B	11	3.25	1.11	7	4.76	0.99	1.66	2.99	<0.005	82.5	60.5	88.5	16.5	<0.05
	C	12	3.54	1.05	7	6.38	1.95	1.44	4.15	<0.0005	88.5	73.5	101.5	10.5	<0.005
	D	12	2.22	0.78	7	1.95	0.94	0.84	0.68	<0.20	132.5	29.5	57.5	54.5	<0.10
6.5.3.0	A	10	0.299	0.06	8	0.442	0.06	0.07	4.59	<0.0005	60.0	75.0	111.0	5.0	<0.001
	B	10	0.305	0.06	7	0.484	0.03	0.05	6.69	<0.0005	58.5	66.5	94.5	3.5	<0.001
	C	12	0.211	0.05	8	0.283	0.04	0.04	3.63	<0.0025	89.0	85.0	121.0	11.0	<0.005
	D	12	0.141	0.04	7	0.134	0.04	0.04	0.35	<0.40	123.5	38.5	66.5	45.5	<0.10

6.5.1.0 Proteingehalt des Lysosomenfraktionsüberstandes (Abb. 16)

Es ergaben sich folgende Ergebnisse:

- bei der Gruppe A war eine Konzentrationszunahme zu finden, die mit $p = 0.15$ nicht signifikant war
- bei der Gruppe B fand sich eine signifikante Konzentrationssteigerung
- bei der Gruppe C imponierte eine leicht signifikante Konzentrationserhöhung
- bei der Gruppe D ergab sich ein leichter Konzentrationsabfall, der nicht signifikant war

6.5.2.0 Proteingehalt in der Lysosomenfraktion vor der Dialyse

(Abb. 17)

Es wurden folgende Befunde erhoben:

- bei der Gruppe A war ein hochsignifikanter Konzentrationsabfall festzustellen
- bei der Gruppe B fand sich ein signifikanter Konzentrationsabfall
- bei der Gruppe C ergab sich eine hoch signifikante Konzentrationsabnahme
- bei der Gruppe D konnte keine statistisch gesicherte Änderung gefunden werden

6.5.3.0 Proteingehalt der Lysosomenfraktion nach der Dialyse

(Abb. 18)

Für die Gruppen A - C fand sich eine Konzentrationsabnahme in der Lysosomenfraktion, und zwar war die Verringerung:

- bei der Gruppe A hochsignifikant
- bei der Gruppe B hochsignifikant
- bei der Gruppe C signifikant
- bei der Gruppe D konnte keine statistisch gesicherte Änderung gefunden werden

6.5.4.0 Verhalten des Proteingehaltes vor und nach der Dialyse

Im folgenden wurden die Quotienten von

- Proteinkonzentrationen vor und nach Dialyse bei Versuchs- und Kontrolltieren
sowie
- Proteinkonzentrationen der Versuchstiere verglichen mit denen der Kontrolltiere vor und nach Dialyse
gebildet.

	Versuchstiere Gruppe		Kontrolltiere	
vor Dialyse	: 3.13	A	5.89	0.53 (b)
nach Dialyse	: 0.29		0.44	0.67 (b)
	10.46 (a)		13.3 (a)	
vor Dialyse	: 3.25	B	4.76	0.68 (b)
nach Dialyse	: 0.31		0.48	0.63 (b)
	10.70 (a)		9.9 (a)	
vor Dialyse	: 3.54	C	6.38	0.55 (b)
nach Dialyse	: 0.21		0.28	0.75 (b)
	16.80 (a)		22.8 (a)	
vor Dialyse	: 2.22	D	1.95	1.12 (b)
nach Dialyse	: 0.14		0.13	1.06 (b)
	15.80 (a)		14.5 (a)	

Aus diesen Berechnungen geht hervor, daß sich der Proteingehalt der Versuchstier- und der der Kontrolltierlysosomenfraktionen vor und nach der Dialyse gleichsinnig verhält.

6.6.0.0 UNTERSUCHUNGEN IM URIN

Kapitel	Gruppe	Grundgrößen						t-Test			U-Test				
		Versuchstiere			Kontrolltiere			$\pm s$	t	p	R_1	U_1	R_2	U_2	p
		n	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$								
6.6.1.0.	A	10	31.52	17.18	10	46.43	29.07	23.88	1.39	<0.10	84.0	71.0	126.0	29.0	<0.10
	B	9	17.41	10.14	9	30.17	13.49	11.94	2.27	<0.025	59.0	67.0	112.0	14.0	<0.01
	C	6	19.25	3.20	6	28.10	6.83	5.33	2.87	<0.01	23.0	34.0	55.0	2.0	<0.005
	D	6	19.48	9.18	6	26.59	10.30	9.76	1.26	<0.15	28.0	29.0	50.0	7.0	<0.05
6.6.2.0.	A	10	172.36	47.31	10	186.24	117.29	89.43	0.35	<0.40	112.0	43.0	98.0	57.0	>0.10
	B	9	115.07	78.81	9	188.93	79.06	78.94	1.98	<0.05	64.0	62.0	107.0	19.0	<0.05
	C	6	123.43	9.03	6	159.76	13.84	12.43	5.06	<0.0005	21.0	36.0	57.0	0	<0.005
	D	6	109.97	39.97	6	134.76	39.43	39.71	1.08	<0.15	33.0	24.0	45.0	12.0	<0.10

6.6.1.0 Hexosamin (Abb. 19)

Bei allen Gruppen fand sich eine Abnahme des Hexosamingehaltes.

- bei der Gruppe A fand sich eine 30 %ige Abnahme, die mit $p = 0.10$ statistisch nicht signifikant war
- bei der Gruppe B war die Abnahme signifikant
- bei der Gruppe C war die Abnahme signifikant
- bei der Gruppe D fand sich eine leicht signifikante Abnahme (U-Test)

6.6.2.0 Gesamtglucuronsäure (Abb. 20)

Auch hier fand sich eine Abnahme, ähnlich dem Verhalten von Hexosamin.

Es ergab sich

- bei der Gruppe A eine Verringerung, die statistisch nicht signifikant war
- bei der Gruppe B eine leicht signifikante Abnahme
- bei der Gruppe C eine signifikante Abnahme
- bei der Gruppe D eine statistisch nicht signifikante Abnahme

Kapitel	Gruppe	Grundgrößen						t-Test			U-Test				
		Versuchstiere			Kontrolltiere			t	p	R ₁	U ₁	R ₂	U ₂	p	
		n	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$								
6.7.0.0.	A	11	79.34	19.96	8	129.33	18.56	19.39	5.54	<0.0005	68.0	86.0	122.0	2.0	<0.001
	B	10	67.86	11.29	6	78.38	14.66	12.59	1.62	<0.10	70.0	45.0	66.0	15.0	<0.10
	C	11	59.47	17.88	7	90.50	27.92	22.19	2.89	<0.005	81.0	62.0	90.0	15.0	<0.025
	D	12	148.26	16.97	7	159.21	13.11	15.72	1.46	<0.10	103.0	59.0	87.0	25.0	<0.10
6.8.0.0.	A	11	0.033	0.003	8	0.040	0.004	0.003	4.218	<0.0005	69.0	85.0	121.0	3.0	<0.001
	B	11	0.035	0.002	7	0.040	0.003	0.002	3.165	<0.005	76.0	67.0	95.0	10.0	<0.005
	C	12	0.036	0.003	8	0.043	0.003	0.003	4.020	<0.0005	87.0	87.0	123.0	9.0	<0.001
	D	10	0.033	0.003	7	0.036	0.003	0.003	1.906	<0.05	68.0	57.0	85.0	13.0	<0.025
6.9.0.0.	A	11	1.51	0.130	8	1.685	0.09	0.117	3.22	<0.0025	81.0	73.0	109.0	15.0	<0.01
	B	11	1.29	0.07	7	1.34	0.04	0.064	1.518	<0.10	85.0	58.0	86.0	19.0	<0.05
	C	12	1.19	0.036	8	1.28	0.06	0.055	3.98	<0.0005	84.0	90.0	126.0	6.0	<0.001
	D	12	0.956	0.03	7	1.007	0.06	0.054	2.03	<0.05	89.5	72.5	100.5	11.5	<0.005

6.7.0.0 DESOXYRIBONUCLEINSÄURE (Abb. 21)

Der Gehalt an DNS - angegeben in $\mu\text{g DNS} / \text{g FG}$ - nahm bei allen Versuchstier- im Vergleich zu den Kontrolltiergruppen ab. Eine statistische Sicherung dieser Befunde fand sich nur bei den männlichen Tieren.

Die Abnahme war

- bei der Gruppe A hochsignifikant
- bei der Gruppe C signifikant
- bei der Gruppe B ($p = 0.10$) nicht signifikant
- bei der Gruppe D ($p = 0.10$) nicht signifikant

6.8.0.0 VERHÄLTNIS VON LEBERGEWICHT (g) ZU LEBENDGEWICHT (g) (Abb. 22)

Übereinstimmend ergab sich bei allen Gruppen eine Abnahme der Quotientenmittelwerte, die

- bei der Gruppe A hochsignifikant war
- bei der Gruppe B signifikant war
- bei der Gruppe C hochsignifikant war
- bei der Gruppe D leicht signifikant war

6.9.0.0 QUOTIENT AUS END- UND ANFANGSGEWICHT

Es wurden die Gewichte der Ratten untersucht, welche sie am Ende und zu Anfang des Versuches hatten.

Übereinstimmend ergab sich eine Abnahme des Quotientenmittelwertes der Versuchstiere im Vergleich zu dem der Kontrolltiere.

Speziell war die Abnahme

- a. bei der Gruppe A signifikant
- b. bei der Gruppe B leicht signifikant (U-Test)
- c. bei der Gruppe C hochsignifikant
- d. bei der Gruppe D leicht signifikant

7.0.0.0 ABBILDUNGEN

Bei der graphischen Darstellung der Versuchsergebnisse sind die einzelnen Gruppen so bezeichnet, wie dies unter 4.0.0.0 angeführt wurde

Abbildung 1

Hyaluronidase-Aktivitäten,
ausgedrückt in
E/mg Protein im Inkuba-
tionsmedium

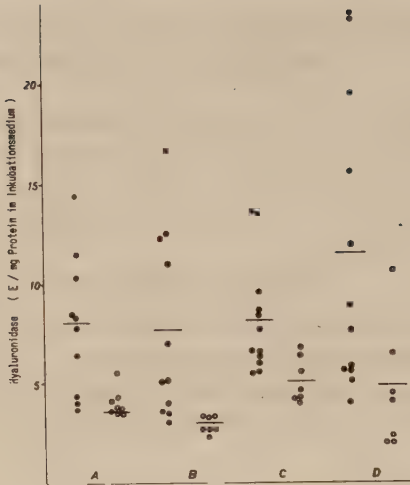


Abbildung 2

Hyaluronidase-Aktivitäten,
ausgedrückt in
E/ μ g DNS pro Feuchtgewicht

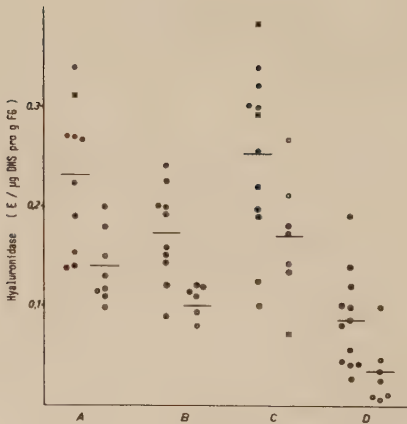


Abbildung 3

β -Glucuronidase-Aktivitäten
ausgedrückt in mU

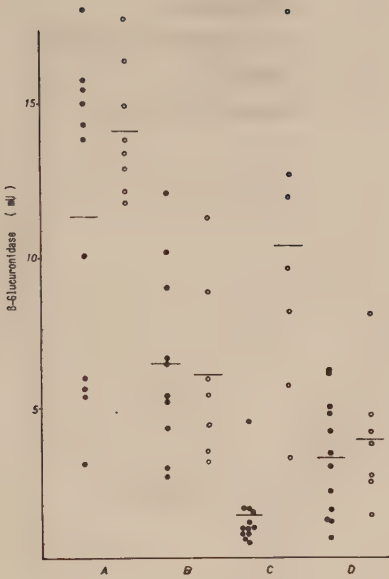


Abbildung 4

β -Glucuronidase-Aktivitäten
angegeben in
E/ μ g DNS pro g FG

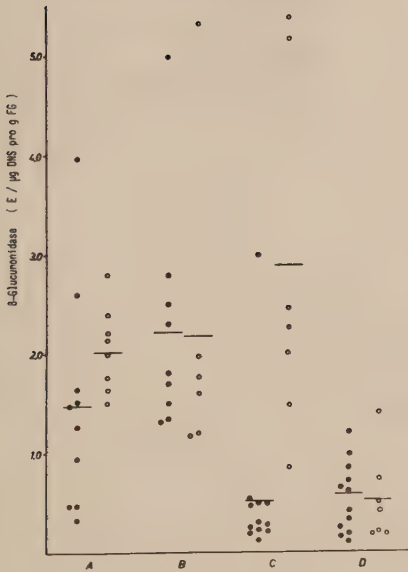


Abbildung 5

β -Acetylglucosaminidase-
Aktivitäten,
angegeben in mU

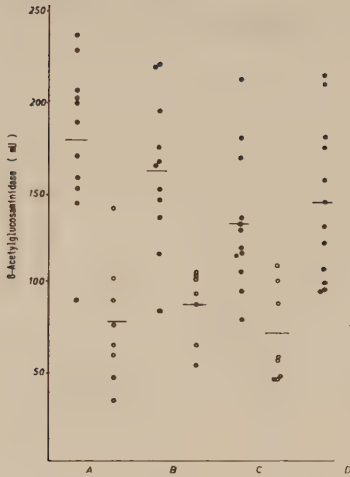


Abbildung 6

β -Acetylglucosaminidase-
Aktivitäten,
angegeben in
E/ μ g DNS pro g FG

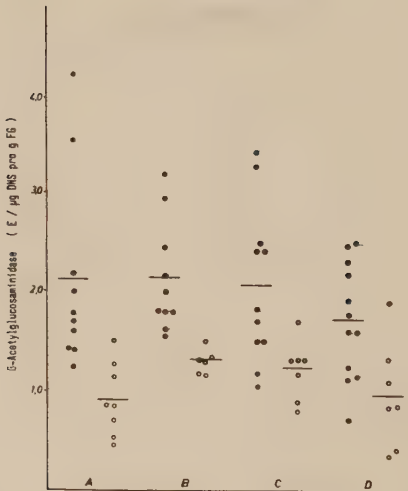
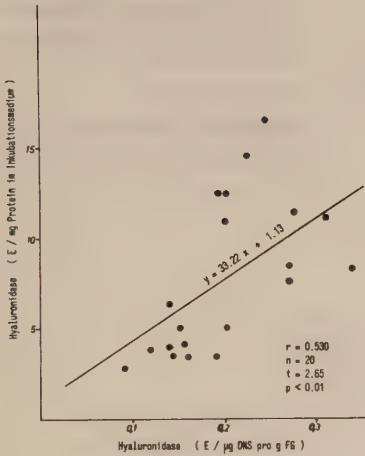


Abbildung 7

Korrelationsstatistische
Darstellung der Hyaluroni-
dase-Aktivitäten in den
2 Bezugssystemen

Ordinate: E/mg Prot. im
Inkub. med.

Abszisse: E/ug DNS pro g FG
Gruppe A und B



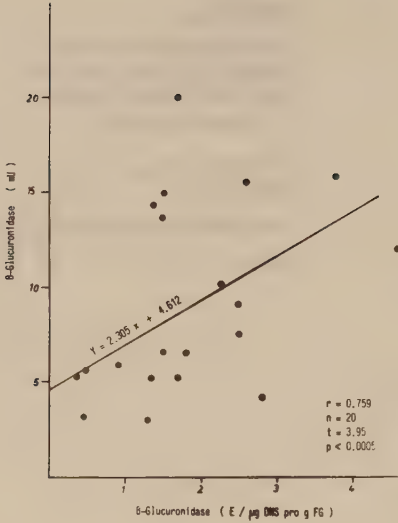


Abbildung 8

Korrelationsstatistische
Darstellung der β -Glucuron-
idase-Aktivitäten in den
2 Bezugssystemen

Ordinate: mU

Abszisse: E/ μ g DNS pro g FG
Gruppen A und B

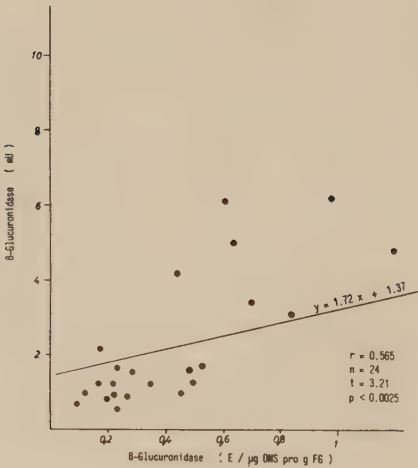


Abbildung 9

Korrelationsstatistische
Darstellung der β -Glucuron-
idase-Aktivitäten in den
2 Bezugssystemen

Ordinate: mU

Abszisse: E/ μ g DNS pro g FG
Gruppen C und D

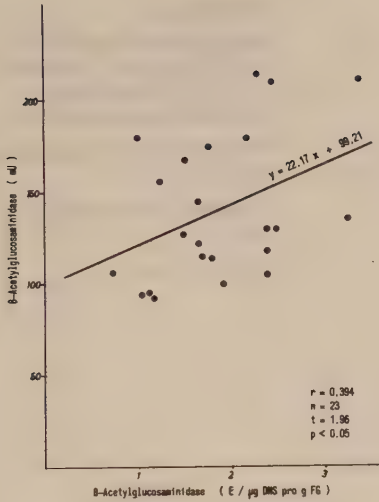


Abbildung 10

Korrelationsstatistische
Darstellung der β-Acetyl-
glucosaminidase -Aktivitäten
in den 2 Bezugssystemen

Ordinate: mU

Abszisse: E/ug DNS pro g FG
Gruppen A und B

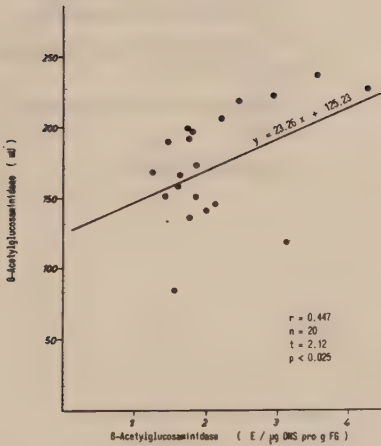


Abbildung 11

Korrelationsstatistische
Darstellung der β-Acetyl-
glucosaminidase-Aktivitäten
in den 2 Bezugssystemen

Ordinate: mU

Abszisse: E/ug DNS pro g FG
Gruppen C und D

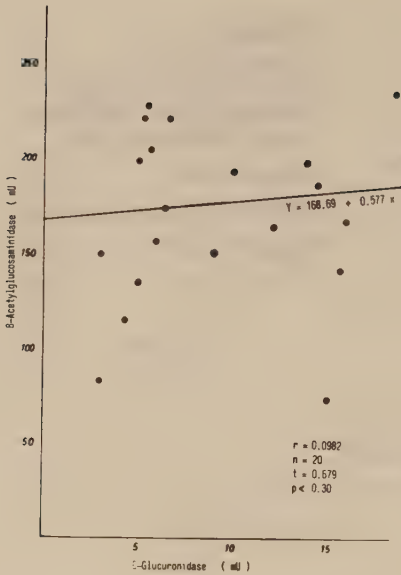


Abbildung 12

Korrelationsstatistische Darstellung des Verhaltens von β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase

Ordinate: β -Acetylglucosaminidase (mU)

Abszisse: β -Glucuronidase (mU)

Gruppen A und B

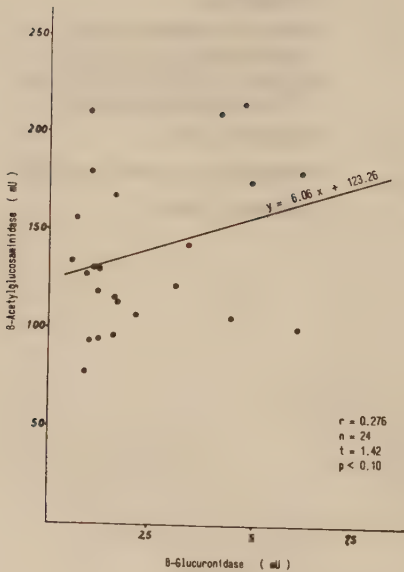


Abbildung 13

Korrelationsstatistische Darstellung des Verhaltens von β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase

Ordinate: β -Acetylglucosaminidase (mU)

Abszisse: β -Glucuronidase (mU)

Gruppen C und D

Abbildung 14

Korrelationsstatistische
Darstellung des Verhaltens
von Hyaluronidase und
 β -Acetylglucosaminidase

Ordinate: β -Acetylglucosami-
nidase (mU)

Abszisse: Hyaluronidase
(E/mg Protein im Inkub. med.)

Gruppen A und B

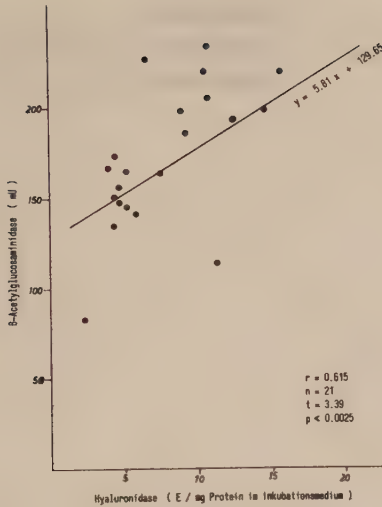


Abbildung 15

Korrelationsstatistische
Darstellung des Verhaltens
von Hyaluronidase und
 β -Acetylglucosaminidase

Ordinate: β -Acetylglucosami-
nidase (mU)

Abszisse: Hyaluronidase
(E/mg Protein im Inkub. med.)

Gruppen C und D

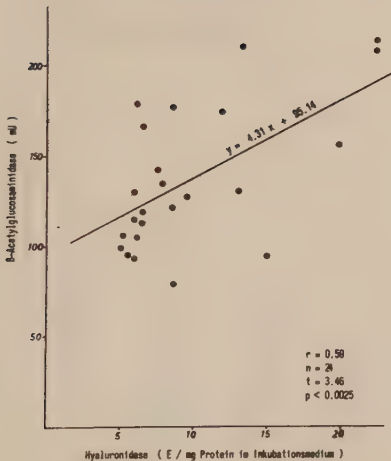


Abbildung 16

Proteingehalt im Lysosomen-
fraktionsüberstand

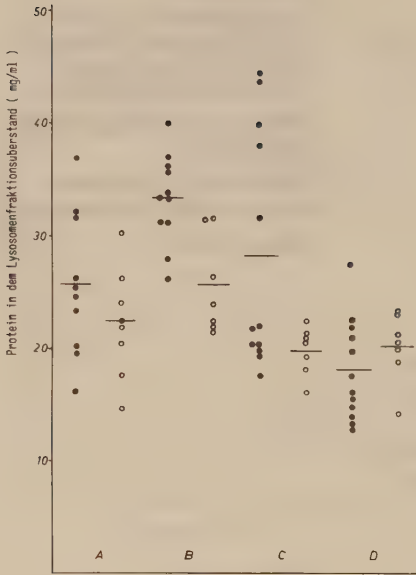
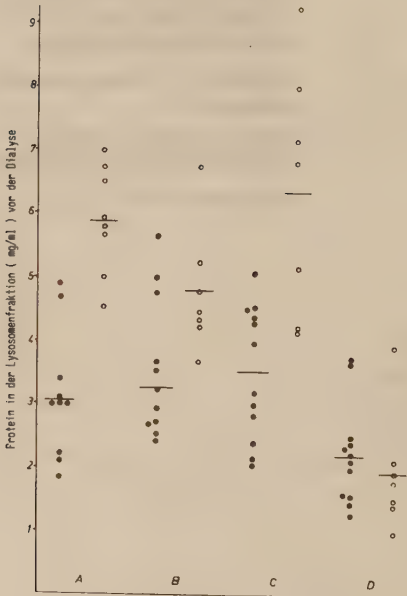


Abbildung 17

Proteingehalt in der Lyso-
somenfraktion vor der
Dialyse



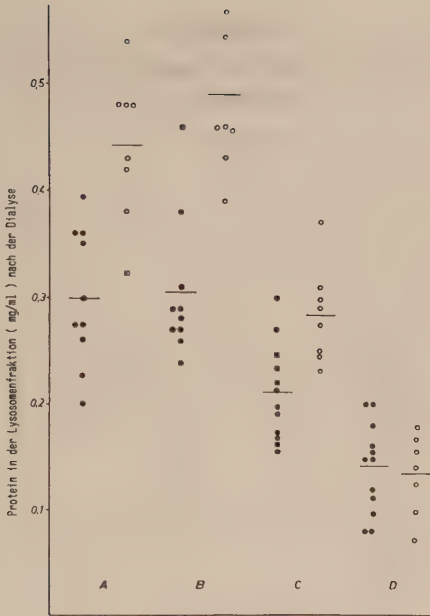


Abbildung 18
Proteingehalt in der Lyso-
somenfraktion nach der
Dialyse

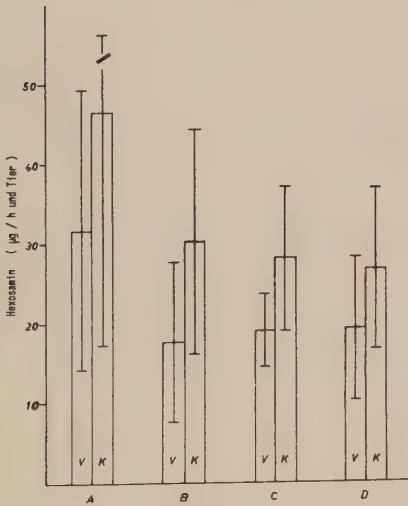


Abbildung 19
Darstellung des Hexosamin-
gehaltes im Urin

Abbildung 20

Darstellung des Gehaltes
an Gesamtglucuronsäure
im Urin

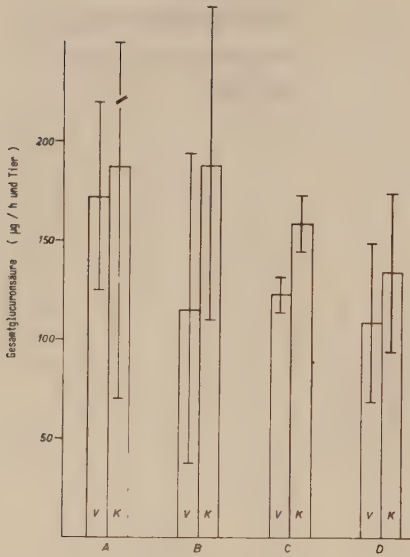


Abbildung 21

Darstellung des DNS-
Gehaltes

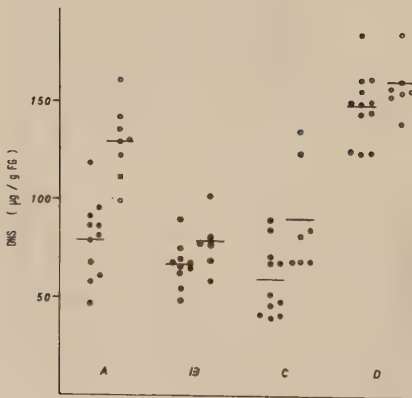


Abbildung 22

Quotient aus Lebergewicht (g) und Lebendgewicht (g) am Tage der
Tötung



8.0.0.0 DISKUSSION

In umfangreichen Untersuchungen von ASBOE-HANSEN (11 - 14), SPØRENSEN (50) konnte gezeigt werden, vor allem an dem experimentellen Modell der Entzündung, daß die Nebennierenrindenhormone einen signifikanten Einfluß auf den Bindegewebsstoffwechsel haben. Dabei sind sowohl die zellulären Elemente - Fibrocyten, Fibroblasten, Mastzellen - betroffen, als auch die Skleroproteide und sauren Glycosaminoglycane. Mit der Einführung radioaktiv markierter Substanzen ($^{35}\text{SO}_4$, ^{14}C -Acetat, ^{14}C -Glucosamin u. a.) konnte gezeigt werden, daß es durch Gabe von Prednisolon und Cortison zu einer Herabsetzung der Mucopolysaccharidsynthese kommt. Hydroxyprolinbestimmungen in Geweben ergaben nach Prednisolongabe eine herabgesetzte Kollagenkonzentration.

Während alle diese Untersuchungen eine Aussage über die Beeinflußbarkeit von Synthesevorgängen der Glycosaminoglycane und des Kollagens durch Nebennierenrindenhormone gestatten, deutet die von JUNGE-HÜLSING nachgewiesene (54) Verlängerung der Halbwertszeit der Mucopolysaccharide nach Prednisolongabe auf eine mögliche Beeinflußbarkeit der Abbaumechanismen hin.

In der vorliegenden Arbeit konnte nun erstmals durch Aktivitätsmessungen der am Abbau der Mucopolysaccharide beteiligten Enzyme: Hyaluronidase, β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase und durch Konzentrationsmessungen der Mucopolysaccharidspaltprodukte Hexosamin und Uronsäure im Urin nach Gabe von Prednisolon und ACTH ein Einblick in die katabolen Stoffwechselvorgänge der Glycosaminoglycane gewonnen werden.

Die Enzymaktivitätsmessungen wurden im Lysosomenfraktionsüberstand und in der Lysosomenfraktion durchgeführt. Durch die Proteinkonzentrationszunahme im Lysosomenfraktionsüberstand war jedoch eine exakte Angabe der spezifischen Aktivität nicht möglich, so daß in der vorliegenden Arbeit auf diese Ergebnisse nicht eingegangen wurde.

Bei konstantem Proteingehalt hätte eine Aussage über das Verhältnis der intralysosomalen zur extralysosomalen Aktivität getroffen werden können und damit wäre dann auch eine Stellungnahme zu den bekannten Membranstabilisierungseffekten von Prednisolon möglich gewesen. So wurde vor allem durch die Untersuchungen von DE DUVE (60), WEISSMANN und DINGLE, JANOFF, THOMAS, HEGNER (81) für Glucocorticoide eine Lysosomenmembranschutzwirkung nachgewiesen. Als Mechanismus für die Membranstabilisierung werden nach WILLMER (79) physikalische Wechselwirkungen zwischen Steroiden und Bausteinen von Lipidmembranen angesehen.

Einen indirekten Hinweis könnten die Konzentrationsmessungen von Hexosamin und Uronsäure im Urin liefern, die in allen Versuchsgruppen - sowohl nach ACTH, als auch nach Prednisolon - eine Konzentrationsabnahme erkennen ließen.

Aktivitätsmessungen der Glycosaminoglycanohydrolasen in der Lysosomenfraktion zeigen, daß die 3 Enzyme nach Gabe von ACTH und Prednisolon ein unterschiedliches Verhalten aufweisen. So kommt es in allen Versuchsgruppen zu signifikanten Aktivitätssteigerungen der Hyaluronidase und β -Acetylglucosaminidase, während die β -Glucuronidase-Aktivität konstant bleibt oder sogar - nach Gabe von Prednisolon an männliche Ratten - signifikant abfällt.

Aktivitätssteigerungen verschiedener cytoplasmatischer Enzyme sind seit langem bekannt und werden im Sinne einer Enzyminduktion gedeutet.

Im Zusammenhang mit den Aktivitätssteigerungen der Hyaluronidase und β -Acetylglucosaminidase ist jedoch der folgende Befund interessant: WIENER et al. (80) fanden, daß eine 6tägige Gabe von 40 mg Cortison/kg zu einer 2- bis 3fachen Erhöhung der Lysosomenzahl führte. Damit könnte die in der vorliegenden Arbeit gefundene Enzymaktivitätssteigerung einmal durch eine echte Enzyminduktion, z. a. aber auch durch eine Vermehrung der Lysosomenzahl - mit konstantem Enzymgehalt - erklärt werden.

9.0.0.0 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden die Aktivitäten der am Abbau der interzellulär gelegenen Mucopolysaccharide beteiligten lysosomalen Enzyme: Hyaluronidase, β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase in der Rattenleber nach Gabe von ACTH und Prednisolon gemessen. Gleichzeitig wurden die Konzentrationen der Mucopolysaccharid-Spaltprodukte Hexosamin und Uronsäure im Urin bestimmt.

Dabei konnten folgende Ergebnisse erhoben werden:

1. Für die Hyaluronidase in der Lysosomenfraktion ergab sich in allen Gruppen eine Zunahme der Enzymaktivität; dabei verhielten sich die Werte auf Protein - in der Lysosomenfraktion - sowie auf DNS - im Frischgewebe - bezogen gleichsinnig.
2. Die β -Glucuronidase-Aktivität in der Lysosomenfraktion blieb nach Gabe von ACTH und Prednisolon an weibliche Tiere konstant und war nur bei den männlichen mit Prednisolon behandelten Tieren deutlich erniedrigt.
3. Für die β -Acetylglucosaminidase in der Lysosomenfraktion fand sich in allen Gruppen eine Enzymaktivitätszunahme. Werte auf Protein - in der Lysosomenfraktion - sowie auf DNS - im Frischgewebe - bezogen, korrelierten miteinander.
4. Die Proteinkonzentration des Lysosomenfraktionsüberstandes war nach Gabe von ACTH und Prednisolon an männliche Tiere erhöht und blieb nur bei den weiblichen mit Prednisolon behandelten Tieren konstant. der Proteingehalt in der Lysosomenfraktion war nach Gabe von ACTH und Prednisolon an männliche Tiere vermindert und zeigte nur bei den weiblichen mit Prednisolon behandelten Tieren keine Konzentrationsänderung.
5. Der DNS-Gehalt im Leberfrischgewebe fiel nach Gabe von ACTH und Prednisolon ab.
6. Hexosamin und Uronsäure zeigten im Urin eine Konzentrationsabnahme.

10.0.0.0 LITERATURVERZEICHNIS

1. BEGEMANN, H.; KABOTH, W.
Nebenwirkungen der Cortisonderivate
Der Internist 8, 85 (1967)
2. ABDEL-WAHED A. BOSEILA
Endocrine Influence On Blood Elements
aus: Hormones and Connective Tissue, G. Asboe-Hansen
Munksgaard 1966, p. 38-69
3. GOODMAN, L.S., GILMAN, A.
The Pharmacological Basis of Therapeutics
Macmillan Company, New York (1965)
4. FISHER, J. W.
Increase in circulating red cell volume of normal rats
after treatment with hydrocortisone or corticosterone.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 97, 502 - 505 (1958)
5. FROESCH, E.R., A.I. WINEGARD, A.E. RENOLD and G.W. THORN
Mechanism of the glucosuria produced by the administration of
steroids with glucocorticoid activity.
J. clin. Invest. 37, 524 - 532 (1958)
6. HILLS, A.C., P.H. FORSHAM and C.A. FINCH
Changes in circulating leucocytes induced by the administration
of pituitary adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in man.
Blood 3, 755 - 768 (1948)
7. KAISER, H.
Cortisonderivate in Klinik und Praxis
G. Thieme Verlag, Stuttgart (1965)
8. KUSCHINSKY, G., H. LÜLLMANN
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie
G. Thieme Verlag, Stuttgart (1970), 4., überarbeitete und erweiterte
Auflage
9. NELSON, D.H., A. SANDBERG, J.G. PALMER and F.H. TYLER
Blood levels of 17-hydroxy-corticosteroids following the administration
of adrenal steroids and their relation to levels of circulating leucocytes
J. clin. Invest. 31, 843 - 849 (1952)

10. TEPPERMAN, J.
Metabolic and endocrine physiology.
aus: Year Book Medical Publ., Chicago (1962)
11. ASBOE-HANSEN, G.
Hormonal effects on connective tissue.
Physiol. Rev. 38 446 (1958)
12. ASBOE-HANSEN, G.
Endocrine control of connective tissue.
Amer. J. Med. 26 (1959) 470
13. ASBOE-HANSEN, G.
The hormonal control of connective tissue.
Int. Rev. Conn. Tiss. Res. 1 (1963) 29
14. ASBOE-HANSEN, G.
in: L. C. Mills und J. H. Moyer: Inflammation and Diseases of
Connective Tissue (Saunders, Philadelphia und London) 1961
15. BRUNISH, R.
The Hormonal Regulation of Acid Mucopolysaccharides.
in: Hormones and Connective Tissue, G. Asboe-Hansen,
Munksgaard 1966 11-37
16. DORFMAN, A., S. SCHILLER
Effects of hormones on the metabolism of acid mucopolysaccharids
of connective tissue.
Recent Progr. Hormone Res. 14 (1958) 427
17. DZIEWIATKOWSKY, D. D.
Effect of Hormones on the Turnover of Polysaccharides in
Connective Tissues.
in: Connective Tissue: Intercellular Macromolecules
Little, Brown, Boston (1964)
18. EISENSTEIN, A. B.
The biochemical aspects of hormone action.
Little, Brown & Co., Boston (1964)
19. GIBIAN, H.
Mucopolysaccharide und Mucopolysaccharidasen
Franz Deuticke Wien (1959)

20. HAUSS, W.H. , G. JUNGE-HÜLSING, U. GERLACH, W. WIRTH
Über Veränderungen des Mesenchymstoffwechsels durch Umwelt-
faktoren durch Hormone und bei rheumatischen Erkrankungen.
Rheumatismus 36 (1965) , Dr. Dietrich Steinkopff Verlag Darmstadt
21. HAUSS, W.H. , W. HIBY, G. JUNGE-HÜLSING, W. KLOSTERKÖTTER
Über den Stoffwechsel der Sulfomukopolysaccharide im Bindegewebe
der Lungen bei experimenteller Silikose und seine hormonale Regu-
lation.
Beitr. Silikose-Forschung, Grundfragen Silikoseforschung
6 (1965) 199
22. HECHTER, O. and I.D. HACKERSTON
On the action of mammalian hormones
in: G. Pincus , K.V. Thimann and E.B. Astwood "The hormones"
vol. V 697 - 825 New York : Academic Press 1964
23. IVERSEN, K.
Hormonal Influence on Connective Tissue.
in: Connective Tissue in Health and Disease
Hsg. G. Asboe-Hansen Munksgaard, Copenhagen 1954
24. KARLSON, P.
Mechanisms of hormone action.
A Nato advanced study institute New York Academic Press 1965
25. PRIEST, R.E.
in: L.C. Mills and J.H. Moyer: Inflammation and Diseases
of Connective Tissue
Saunders, Philadelphia und London 1961
26. PRIEST, R.E. , R.M. KOPLITZ und E.P. BENDITT
J. exp. Med. 112, 225 (1960)
27. SOBEL, H. und J. MARMORSTON
Rec. Progr. Hormon. Res. 14 , 457 (1958)
28. SZIRMAI, J.A.
Acta Endocrinol. 25, 225 (1957)
29. TEPPERMAN, J. and H.M. TEPPERMAN
Some effects of hormones on cells and cell constituents
Pharmacol. Rev. 12, 301 - 353 (1960)

30. VILLEE, C. A. and L. L. ENGEL
Mechanism of action of steroid hormones.
Pergamon Press , New York p. 263 (1961)
31. WARREN, G. H. und R. FAGAN
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103, 786 (1960)
32. ZACHARIAE, F. and H. THORSØE
Hormonal control of acid mucopolysaccharids in the female genital tract.
in: Hormones and Connective Tissue, G. Asboe-Hansen
Munksgaard 1966 p. 257 - 281
33. ASBOE-HANSEN, G.
Effect of the adrenocorticotrophic hormones of the pituitary on mesenchymal tissues.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 2 (1950), 271
34. ASBOE-HANSEN, G.
Influence of ACTH and Cortisone on dermal spread.
Suppressed action of hyaluronidase due to connective tissue changes.
Acta endocr. (Kbh.) 9 (1952), 29
35. ASBOE-HANSEN, G.
Autoradiographic evidence of Cortisone action on mast cells in experimental skin tumors.
Cancer Res. 14 (1954), 94
36. BOSTRÖM, H., B. MANSSON
Factors influencing the exchange of the sulphate group of the chondroitin sulphuric acid of cartilage in vitro.
Ark. Kemi 6 (1953), 23
37. BOSTRÖM, H., E. ODEBLAD
The influence of Cortisone upon the sulphate exchange of chondroitin sulphuric acid.
Ark. Kemi 6 (1953), 39
38. BUSH, I. E.
Chemical and biological factors in the activity of adrenocortical steroids.
Pharmacological Rev. 14, 317 - 445 (1962)

39. DENKO, C.W., M.A. GOLDBERG, E.S. MIKA, L.J. ROTH
Effect of hydrocortisone on C¹⁴OOH-P-Aminosalicylic acid
distribution in cartilage of the rat.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 95 (1957) , 483
40. DENKO, C.W.
The effect of hydrocortisone and cortisone on fixation
of S³⁵ in the stomach.
J. Lab. clin. Med. 51 (1958), 174
41. DIXON, P.F., C.H. GRAY and R.V. QUINCEY
The action of steroid hormones at the cellular level.
Postgrad. med. J. 40 , 448 - 456 (1964)
42. HOUCK, J.C., Y.M. PATEL
Proposed Mode of Action of Corticosteroids on the
Connective Tissue.
Nature 206, 4980 : p. 158 - 160 (1965) Washington
43. JANOSKI, A.H., J.C. SHAVER, N.P. CHRISTY and W. ROSNER
On the Pharmacologic Actions of 21-Carbon Hormonal
Steroids ("Glucocorticoids") of the Adrenal Cortex in Mammals.
Handbuch der experim. Pharmakologie, Vol. XIV/3, 256-338
Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1968
44. LAYTON, L.L.
Effect of Cortisone upon Chondroitinsulfate synthesis
by animal tissues.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 76 (1951), 596
45. LORENZEN, I.
Corticosteroids and vascular connective tissue
I. Effects of prednisone on rabbit aorta. Biochemical
and morphological studies.
Acta endocr. (Kbh.) 60, 4 : 586 - 594 (1969)
46. RAGAN, C., E.C. HOWES, C.M. PLOTZ, K. MEYER, J.W. BLUNT
Effect of cortisone on production of granulation tissue in the rabbit
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 72, 718-721 (1949)
47. SCHAYER, R.W.
A unified theory of glucocorticoid action.
Perspect. Biol. Med. 8, 71-84 (1964)

48. SCHAYER, R. W.
A unified theory of glucocorticoid action.
II. On a circulatory basis for the metabolic effects of glucocorticoids.
Perspect. Biol. Med. 10, 409-419 (1967)
49. SCHILLER, S., A. DORFMAN
The metabolism of Mucopolysaccharides in animals: The effect of cortisone and hydrocortisone.
Endocrinology 60 (1957), 376
50. SØRENSEN, B. M.
Influence of glucocorticoid and anabolic steroid hormones on the wound healing Process.
in: Hormones and Connective Tissue G. Asboe-Hansen
Munksgaard 1966 p. 106 - 123
51. WEGELIUS, O. B. KOCK
The basic mechanism. in the effect of Cortisone on the connective tissue.
in: Hormones and Connective Tissue G. Asboe-Hansen
Munksgaard 1966 p. 70-81
52. ZACHARIAE, L.
Local action of corticosteroids. Side effects and erroneous indications for clinical use.
in: Hormones and Connective Tissue G. Asboe-Hansen
Munksgaard 1966 p. 82 - 105
53. HAUS, W. H., G. JUNGE-HÜLSING, U. GERLACH
Die unspezifische Mesenchymreaktion
G. Thieme Verlag Stuttgart 1968
54. JUNGE-HÜLSING, G.
Untersuchungen zur Pathophysiologie des Bindegewebes
Dr. Alfred Hüthing Verlag, Heidelberg (1965)
55. BANGHAM, A. D., G. WEISSMANN
The action of steroids and streptolysin S on the permeability of phospholipid structures to cations.
J. molec. Biol. 13, 253 - 259 (1965)
56. WEISSMANN, G. and L. THOMAS
The effects of corticosteroids upon connective tissue and lysosomes
Recent Progress in Hormone Res. Vol. XX (1964) 215 - 245

57. WAGNER, H., G. JUNGE-HÜLSING, W. WIRTH, J. KUCKULIES,
O. RAVE
Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Hormone und Vitamine
auf den Stoffwechsel der sulfatierten Mucopolysaccharide des Binde-
gewebes.
Z. Rheumaforsch. 27, 1/2, 3 - 12 (1968)
58. DUVE, C. De, B.C. PRESSMANN, R. GIANETTO, R. WATTIAUX
and F. APPELMANS
Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution
patterns of enzymes in rat liver tissue.
Biochem. J. 50, 604 - 617 (1955)
59. DUVE, C. De
Lysosomes a new group of cytoplasmatic particles.
in: T. Hayashi, Subcellular particles, 128 - 159
New York: Ronald Press 1959
60. DUVE, C. De
The lysosome concept.
Ciba Symp. on lysosomes 1 - 131, London Churchill 1963
61. WEICHSELBAUM, T.E.
Accurate and rapid method for determination of proteins
in small amounts of blood serum and plasma.
Amer. J. clin. Path. 10, 40 - 49 (1946)
62. LOWRY, O.H., N.J. ROSENBROUTH, A.L. FARR and R. RANDALL
Protein measurement with the Folin phenol reagent.
J. biol. Chem. 193, 265-275 (1951)
63. RIEDER, H.F.
Über Wert und Zuverlässigkeit der Cu-Folin-Methode zur
Bestimmung kleinster Eiweißmengen.
Clin. chem. Acta 6, 188-194 (1961)
64. CERIOTTI, G.
A microchemical determination of desoxyribonucleic acid.
J. biol. Chem. 198, 297 (1952)
65. KECK, K.
An ultramicro technique for the determination of
desoxypentose nucleic acid.
Arch. Biochem. Biophys. 63, 446 (1956)

66. MORGAN, W. T. J., ELSON, L. A.
Biochem. J. 28 (1934) 988
67. REISSIG, J. L., STROMINGER, J. L., LELOIR, L. F.
Modified colorimetric method for the estimation of N-acetyl amino
sugars.
J. biol. Chem. 217, 959-966 (1955)
68. a. BUDDECKE, E.
Wechselwirkungen des Diffusionsfaktors Oligo-N-Methyl-
morpholiniumpropylenoxyd mit anionischen Poly-
sacchariden.
Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem., 330, 84-95 (1962)
- b. BUDDECKE, E. und R. DRZENIEK
Stabilitätskonstanten der Calciumkomplexe von sauren
Mucopolysacchariden.
Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem., 327, 49-64 (1962)
69. DOHRMANN, R.
Zur klinischen Bestimmung und Kinetik der β -Glucuronidase
Dtsch. Arch. klin. Med., 206, 322 - 333 (1960)
70. FISHMAN, W. H.
 β -Glucuronidase; in: SUMNER, MYRBÄCK: "The Enzymes"
Vol. 4(1), 642-649 N. Y., Academic Press, 1950
71. TALALLAY, P., W. H. FISHMAN and Ch. H. HUGGINS
Chromogenic substrates. II. Phenolphthalein glucuronic
acid as substrate for the assay of glucuronidase activity.
J. biol. Chem. 166, 757 (1946)
72. FINDLAY, J. and G. A. LEVY
Purification of β -N-acetylglucosaminidase from the pig
epididymidis.
Biochem. J. 77, 170 - 175 (1960)
73. PUGH, D., D. H. LEABACK, P. G. WALKER
N-Acetyl- β -glucosaminidase in rat kidney.
Biochem. J. 65 (1957) 464 - 469
74. WERRIES, E.
Darstellung und Eigenschaften von β -N-Acetyl-D-Hexos-
aminidase.
Inaugural-Dissertation, Tübingen (1965)

75. MORGAN, W. T. J. and L. A. ELSON
Biochem. Journ. 27, 1824 (1933)
76. DISCHE, Z.
J. Biol. Chem. 167 (1947), 189
77. YUKI, H. and W. H. FISHMAN
A carbazole method for the differential analysis of
glucuronate, glucosiduronate and hyaluronate.
Biochem. et Biophys. Acta, Vol. 69 (1963) 576 - 578
78. BUDDECKE, E., D. PLATT
Nachweis, Reinigung und Eigenschaften der Hyaluronidase
aus der Aorta des Rindes.
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 343, 61-78 (1965)
79. WILLMER, E. N.
Biol. Rev. 36, 368 (1961)
80. WIENER, J. A. V. LOND, D. V. KINSBERG and D. SPIRO
J. Cell. Biol. 37, 163 (1968)
81. WEISSMANN, G. und I. T. DINGLE
Exp. Cell. Res. 25, 207 (1961)
JANOFF, A. und B. W. ZWEIFACH
Science 144, 1456 (1964)
THOMAS, L.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 115, 233 (1964)
HEGNER, D.
Z. Arzneimittelforschung 19, 131 (1969)

Statistische Literatur:

DOCUMENTA GEIGY, WISSENSCHAFTLICHE TABELLEN
7. Auflage. J.R. Geigy A.G. Basel, 1968

DOERFEL, K.
Beurteilung von Analysenverfahren und -ergebnissen.
2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, 1965

HASELOFF, O.W. und H.J. HOFFMANN
Kleines Lehrbuch der Statistik.
2. Auflage, Verlag Walter de Gruyter, Berlin, 1965

LINDER, A.
Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner
und Ingenieure.
4. Auflage, Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart, 1964

MARTINI, P. , G. OBERHOFFER, E. WELTE
Methodenlehre der therapeutisch-klinischen Forschung.
4. , völlig neubearbeitete Auflage Springer-Verlag, Berlin, 1968

REICH, Th.
Idee und Praxis der medizinischen Statistik.
Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart, 1964

SACHS, L.
Statistische Auswertungsmethoden
2. neubearbeitete und erweiterte Auflage
Springer-Verlag, Berlin, 1969

SCHMIDT, W.
Anlage und statistische Auswertung von Untersuchungen.
Verlag M. und H. Schaper, Hannover, 1961

Herrn Privatdozent Dr. D. Platt gebührt mein
besonderer Dank für die Überlassung des Themas,
die Anregungen und die großzügige Hilfe bei der
Anfertigung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 15. Mai 1945 wurde ich, Karl Heinrich Bolle, als Sohn des Hauptmanns Karl Heinrich Bolle und seiner Ehefrau Inge, geb. Jacob, in Oberaula geboren. Mein Vater fiel am 3. Mai 1945. Im Dezember 1949 heiratete meine Mutter den zur Zeit als Major bei der Bundeswehr beamteten Wilhelm Döring. Neben einer älteren Schwester haben ich zwei jüngere Stiefgeschwister.

Von Ostern 1951 bis Ende März 1956 besuchte ich die Volksschule in Oberaula. Anschließend wurde ich Schüler der Alten Klosterschule, Gymnasium für Jungen und altsprachliches Gymnasium, in Bad Hersfeld. Im Februar 1965 legte ich dort die Reifeprüfung ab.

Im März 1965 wurde ich in der medizinischen Fakultät der Justus-Liebig-Universität in Gießen immatrikuliert.

Im Wintersemester 1965/66 bestand ich das Vorphysikum und im Sommersemester 1967 das Physikum.

Im Wintersemester 1970/71 habe ich in Gießen das Staatsexamen abgelegt.



FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641-77449